

ธวัชชัย ปรานศัตร์. 2558. การศึกษาฤทธิ์ของพืชสมุนไพรไทยที่คัดเลือกต่อภาวะความจำและ
สมรรถภาพทางเพศบกร่องในหนูเพศชายที่เหนียวนำโดยความเครียด. วิทยานิพนธ์
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาประสาทวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ. ดร. จินตนาภรณ์ วัฒนธร,
ผศ.ดร.สุภาพร มัชฌิมะปุระ

บทคัดย่อ

ปัจจุบันความผิดปกติที่เกี่ยวกับความเครียด โดยเฉพาะภาวะความจำบกพร่องและการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศยังคงเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ถึงแม้ว่าความผิดปกติที่เกี่ยวกับความเครียดจะมีความชุกและทำให้เกิดภาวะเพิ่มมากขึ้นทั้งต่อคุณภาพชีวิตและต่อสภาวะทางเศรษฐกิจและสังคมของระบบสาธารณสุขแต่ยังคงไม่มีวิธีการรักษาที่จำเพาะต่อภาวะดังกล่าว สืบเนื่องจากบทบาทสำคัญของความเครียดออกซิเดชันต่อพยาธิสรีรวิทยาของความจำบกพร่องและสมรรถนะทางเพศบกร่องและชื่อเสียงเกี่ยวกับฤทธิ์เพิ่มการเรียนรู้และฤทธิ์เพิ่มสมรรถนะทางเพศของสมุนไพรบางชนิดทำให้ประโยชน์ในการลดความจำบกพร่องและการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศที่เหนียวนำด้วยความเครียดของสมุนไพรที่มีสรรพคุณต้านอนุมูลอิสระเพิ่มการเรียนรู้และฤทธิ์สมรรถนะทางเพศได้รับความสนใจมาก เนื่องจากยังไม่พบข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในประเด็นนี้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งประเมินฤทธิ์ของมะรุม มะม่วงหิมพานต์ และบัวหลวง ต่อภาวะความจำบกพร่อง การทำลายสมอง และการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในแบบจำลองของความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับความเครียดที่กล่าวข้างต้น

ในส่วนแรกของการศึกษานี้เป็นการสำรวจศักยภาพในการต้านความเครียดของสารสกัดสารใบมะรุม ใบมะม่วงหิมพานต์ และดอกบัวหลวงผลการทดลองพบว่าสารสกัดสมุนไพรไทยที่คัดเลือกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และเอนไซม์ MAO-B และเอนไซม์ PDE-5 ข้อมูลจากการศึกษาพิษเฉียบพลัน พบว่าเมื่อป้อนสารสกัดใบมะรุมและดอกบัวหลวงขนาดที่สูงถึงขนาด 5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ไม่พบความเป็นพิษในหนูแรท ในขณะที่สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ ไม่พบความเป็นพิษเมื่อได้รับสารสกัดขนาดที่สูงถึงขนาด 2 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว

ในส่วนที่สองของการศึกษานี้เป็นการมุ่งศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรที่คัดเลือกต่อการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศในหนูที่ได้รับความเครียด หนูเพศผู้พันธุ์วิสตาร์จะได้รับการป้อนสารสกัดที่จะ

ทดสอบวันละครั้ง 30-45 นาทีก่อนนำหนูไปเหนี่ยวนำให้เกิดความเครียดแบบจำกัดการเคลื่อนไหวเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวันตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง สารสกัดใบมะรุมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นขนาด 10, 50 และ 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ในขณะที่ขนาดของสารใบมะม่วงหิมพานต์ที่ใช้จะเป็นขนาด 25, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขนาดของสารดอกบัวหลวงที่ใช้จะเป็นขนาด 10, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หนูจะได้รับการพักเป็นเวลา 3 ชั่วโมงหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดความเครียด จากนั้นหนูจะถูกนำมาประเมินพฤติกรรมทางเพศ หลังป้อนสารสกัดไปครั้งเดียว 7 วัน และ 14 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการประเมิน corticosterone และ testosterone ในซีรัม การทำงานของ MAO-B ในสมองส่วน MPOA และ NAc ความหนาแน่นของเซลล์ประสาทที่ย้อมติดด้วยไทโรซีนไฮดรอกซิเลสในสมองส่วน VTA และ NAc การทำงานของเอนไซม์ PDE-5 และการแสดงออกของ eNOS ในองคชาติ การเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะเองก็ถูกประเมิน สารสกัดของพืชสมุนไพรที่คัดเลือกทุกชนิดสามารถเพิ่มพฤติกรรมทางเพศของหนูที่ได้รับความเครียด สารสกัดทั้งหมดสามารถออกฤทธิ์มีทั้งที่ระบบประสาทส่วนกลางและที่ส่วนปลาย ในระบบประสาทส่วนกลางนั้นพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดออกฤทธิ์ต่อการเพิ่มการทำงานของระบบประสาทโดปามีน ในสมองส่วน VTA, MPOA และ NAc โดยยับยั้งเอนไซม์ MAO-B และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ประสาทโดปามีน นอกจากนี้ยังยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE-5 และเพิ่มระดับ eNOS ในองคชาติ สารสกัดใบมะรุมมีฤทธิ์ลดระดับ corticosterone แต่เพิ่ม testosterone ในซีรัม ในขณะที่สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีฤทธิ์เพิ่มระดับของ Testosterone เป็นหลัก ส่วนสารสกัดดอกบัวหลวงมีฤทธิ์ลดระดับ corticosterone เป็นหลัก ดังนั้นสารสกัดทั้งหมดสามารถปรับพฤติกรรมทางเพศในหนูที่ได้รับความเครียดโดยผ่านระบบประสาทและต่อมไร้ท่อ

ในที่สุดท้ายของการศึกษาครั้งนี้มุ่งศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรที่กล่าวข้างต้นในการปกป้องระบบประสาทและการเพิ่มการเรียนรู้และความจำในหนูที่ได้รับความเครียด หนูเพศผู้พันธุ์วิสตาร์ จะได้รับสารสกัดและการเหนี่ยวนำภาวะเครียดดังที่ได้กล่าวมาแล้วในการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้น ยกเว้นหนูจะได้รับการประเมินความจำชนิดที่เกี่ยวข้องกับทิศทางหลังได้รับสารสกัดไปครั้งเดียว 7 วัน และ 14 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการประเมิน corticosterone ในซีรัม การทำงานของ MAO-A และ MAO-B, AChE, SOD, CAT, GSH-Px และระดับของ MDA และการแสดงออกของ Ki-67 ซึ่งเป็น proliferative marker ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส นอกจากนี้ความหนาแน่นของเซลล์ประสาทใน CA1, CA2, CA3 และ dentate gyrus ของ สมองส่วนฮิปโปแคมปัส ของหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดความเครียดเองก็ได้รับการประเมินด้วย ผลศึกษาพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรที่ได้รับการคัดเลือกมีฤทธิ์ทำให้การเรียนรู้และความจำที่บกพร่อง ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

AChE, MAO-A และ MAO-B ลดระดับ MDA แต่เพิ่มการทำงานของ scavenger enzymes ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส เพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในสมองส่วนต่างๆของฮิปโปแคมปัส และเพิ่มการแสดงออกของ Ki67 ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสด้วย จากข้อมูลทั้งหมดจะพบว่าฤทธิ์ในการทำให้ความจำบกพร่องดีขึ้นนั้นส่วนหนึ่งน่าจะเกิดผ่านการเพิ่มขึ้นของสารสื่อประสาทเซโรโทนิน และ โมนอามีน โดยการยับยั้งเอนไซม์ AChE, MAO-A และ MAO-B และการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส การเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในฮิปโปแคมปัสอาจเกิดจากการลดความเสื่อมของระบบประสาทที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสภาวะความเครียดออกซิเดชันและจากการเพิ่มขึ้นของการแบ่งเซลล์ประสาทในสมองส่วนดังกล่าว การลดสภาวะความเครียดออกซิเดชันในสารสกัดใบมะรุมนั้นส่วนใหญ่เกิดจากการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ SOD และ CAT พบว่าสารสกัดใบมะรุมช่วยลดความเครียดออกซิเดชันผ่านการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ SOD และ GSH-Px เป็นหลัก ในขณะที่สารสกัดดอกบัวหลวงออกฤทธิ์ผ่านการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ CAT เป็นหลัก

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกๆที่แสดงหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนเกี่ยวกับผลของการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศและความจำของมะรุม มะม่วงหิมพานต์ และบัวหลวงซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีชื่อเสียงเกี่ยวกับฤทธิ์ทั้งสองชนิดตามการแพทย์พื้นบ้าน ฉะนั้นพืชสมุนไพรนี้สามารถนำมาบริโภคเป็นแหล่งวัตถุดิบเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพสำหรับภาวะเสื่อมสมรรถภาพทางเพศและความจำบกพร่องที่เหนี่ยวนำจากความเครียด อย่างไรก็ตามในควรศึกษาสารที่น่าจะเป็นตัวออกฤทธิ์และเภสัชจลนศาสตร์ของสารสกัดก่อนที่จะทำการศึกษาในมนุษย์

Thawatchai Prabsattroo. 2015. **The Effect of Selected Thai Medicinal Plants on Memory Impairment and Sexual Dysfunction Induced by Stress in Male Rats**. Doctor of Philosophy Thesis in Neuroscience, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Assoc. Prof. Dr. Jintanaporn Wattanathorn,
Asst. Prof. Dr. Supaporn Muchimapura

ABSTRACT

Currently, the stress related disorders especially cognitive deficit and sexual dysfunction are continually increasing. Despite the increasing prevalence and the great burdens on both quality of life and socio-economic status of health care system induced by stress-related disorders, no specific treatments for these conditions are available. Based on the crucial role of oxidative stress on the pathophysiology of cognitive impairment and sexual dysfunction induced by stress and the reputation for cognitive enhancing and sexual enhancing effects of some medicinal plants, the beneficial effects of the medicinal plants reputed for antioxidant, sexual and cognitive enhancing effects on cognitive deficit and sexual dysfunction induced by stress have gained attention. Since no scientific data concerning this issue are available, this study aimed to determine the effect of *Moringa oleifera*, *Anacardium occidentale* and *Nelumbo nucifera* on memory impairment, brain damage and sexual dysfunction in animal model of stress related disorders mentioned earlier.

In the first part of this study, in vitro screening for anti-stress potential of *M.oleifera* leaves, *A.occidentale* leaves and *N.nucifera* flowers extracts was carried out. The results showed that all selected medicinal plants possessed antioxidant effect and inhibitory effects of AChE, MAO-B and PDE-5. Data obtained from acute toxicity study showed that *M.oleifera* and *N.nucifera* were safe up to 5,000 mg/kg BW while *A.occidentale* was safe up to 2,000 mg/kg BW via oral route.

The second part of this study was focused on the determination of sexual enhancing effect of the selected medicinal plants mentioned earlier in stress-exposed rats. Adult male Wistar rats were administered the tested extracts 30-45 minutes prior to the 12 h- immobilization stress exposure once daily throughout the 14-day

experimental period. The doses of *M.oleifera* leaves extract used in this study were 10, 50 and 250 mg/kg whereas *A.occidentale* leaves extract was used at doses of 25, 100 and 200 mg/kg and *N.nucifera* flowers extract was used at doses of 10, 100 and 200 mg/kg BW. After the exposure to immobilization stress, rats were refreshment for 3 h and then the rats were determined sexual behaviors after the single dose administration and at 7-day and 14-day experimental periods. At the end of experiment, they were determined serum corticosterone, testosterone, activities of MAO-B in MPOA and NAc, density of tyrosine hydroxylase immunoposited neurons in VTA and NAc, PDE-5 activity and eNOS expression in penis. The histology of testis was also investigated. All plants extracts could improve sexual behaviors of stress-exposed rats. All extracts could exert the effect both at the central nervous system and at peripheral system. In the central nervous system, all extracts could enhance dopaminergic system in VTA, MPOA and NAc by suppressing the activities of MAO-B and by increasing the density of tyrosine hydroxylase immunoposited neurons. In addition, they also exerted the sexual enhancing effect at the penis by suppressing PDE-5 activity and increased the expression of eNOS. It was found that *M.oleifera* leaves extract decreased serum corticosterone but increased serum testosterone while *A.occidentale* leaves extract could principally enhance serum testosterone and *N.nucifera* could mainly decrease serum corticosterone. Therefore the extracts could modify male sexual behaviors in stress-exposed rats via neuro-endocrine system.

The last part of this study was focused on the neuroprotective and cognitive enhancing effects of all plants mentioned earlier. Adult male Wistar rats were treated with the tested extracts and stress exposure as that mentioned earlier in the previous part except that the animals were determined spatial memory after the single dose of administration and at 7 and 14 days of treatment. At the end of study, they were determined serum corticosterone, the activities of MAO-A and MAO-B, AChE, SOD, CAT, GSH-Px, MDA level and the expression of Ki67, a proliferative markers, in hippocampus. In addition, the densities of survival neurons in CA1, CA2, CA3 and dentate gyrus in hippocampus of stress-exposed rats were also evaluated. The results showed that the extracts of the selected plants improved memory impairment, suppressed AChE, MAO-A and MAO-B, decreased MDA level but increased

scavenger enzymes activities in hippocampus. The enhanced densities of neurons in various subregions of hippocampus and the expression of Ki67 in hippocampus were also observed. Taken all data together, the improved memory impairment might occur partly by increasing the available ACh and monoamine transmitters via the suppression of AChE and MAO-A and MAO-B and by increasing the neuronal density in hippocampus. The enhanced neuron density in hippocampus might occur partly via the decreased neurodegeneration induced by oxidative stress and via the increased proliferation of neuronal cells in the mentioned areas. The decreased oxidative stress in hippocampus induced by *M.oleifera* leaves extract occurred mainly by increasing SOD and CAT activities. It was found that *A.occidentale* leaves extract exerted the effect to decrease oxidative stress mainly by enhancing SOD and GSH-Px activities while *N.nucifera* flowers extract exerted the effect mainly by increasing CAT activity.

Therefore, this study was the first study to provide supporting scientific evidence concerning sexual and cognitive enhancing effects of *M.oleifera*, *A.occidentale* and *N.nucifera*, the plants reputed for both actions in traditional folklore. These plants can be served as the natural resources for developing health products for sexual dysfunction and cognitive impairment induced by stress. However, further researches concerning the possible active ingredients and pharmacokinetic of the extracts are essential before moving forward to the clinical trial.