# ผลกึ่งเฉียบพลันของสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอลต่อเอนไซม์ไซโตโครม พี450 ในตับ และค่าเคมีคลินิกในเลือดของหนูขาว

นางสาวอัจฉรา ฉัตรสุภางค์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยา
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4449-8

# SUBACUTE EFFECTS OF *MURDANNIA LORIFORMIS* ETHANOLIC EXTRACT ON HEPATIC CYTOCHROME P450 AND CLINICAL BLOOD CHEMISTRY IN RATS

Miss Achara Chatsupang



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy in Pharmacology

Department of Pharmacology
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-4449-8

| | |
|---|---|
| Thesis Title | Subacute effects of *Murdannia loriformis* ethanolic extract on hepatic cytochrome P450 and clinical blood chemistry in rats |
| By | Achara Chatsupang |
| Field of study | Pharmacology |
| Thesis Advisor | Assistant Professor Pol. Lt. Col. Somsong Lawanprasert, Ph.D. |
| Thesis Co-advisor | Assistant Professor Laddawal Phivthong-ngam, Ph.D. |

---

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master 's Degree

..... Dean of Faculty of Pharmaceutical Sciences

(Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman

(Associate Professor Mayuree Tantisira, Ph.D.)

..... Thesis Advisor

(Assistant Professor Pol. Lt. Col. Somsong Lawanprasert, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor

(Assistant Professor Laddawal Phivthong-ngam, Ph.D.)

..... Member

(Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth, M.Sc. in Pharm.)

..... Member

(Associate Professor Supatra Srichairat, Ph.D.)

อัจฉรา ฉัตรสุภางค์ : ผลกึ่งเฉียบพลันของสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอลต่อเอนไซม์ไซโตโครมพี450 ในตับ และค่าเคมีคลินิกในเลือดของหนูขาว. (SUBACUTE EFFECTS OF *MURDANNIA LORIFORMIS* ETHANOLIC EXTRACT ON HEPATIC CYTOCHROME P450 AND CLINICAL BLOOD CHEMISTRY IN RATS) อ. ที่ปรึกษา : [ผศ. พ.ต.ท.หญิง ดร. สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ], อ. ที่ปรึกษาร่วม : [ผศ. ดร. ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม] 116 หน้า. ISBN 974-17-4449-8.

หญ้าปักกิ่ง มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่นิยมใช้เพื่อรักษาและบรรเทาอาการจากโรคมะเร็งหลายชนิด การศึกษานี้มุ่งศึกษาผลกึ่งเฉียบพลันของสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอลต่อการทำงานของเอนไซม์ในเฟสหนึ่ง คือเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 (cytochrome P450, CYP) นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของสารสกัดนี้ต่อค่าเคมีคลินิกและโลหิตวิทยาในเลือดของหนูขาวด้วย การทดลองใช้หนูขาวเพศผู้พันธุ์วิสตาร์จำนวน 30 ตัว โดยแบ่งหนูขาวแบบสุ่มเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมได้รับน้ำกลั่น ขนาด 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม/วัน กลุ่มที่สองและสามเป็นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอลในขนาด 0.1 และ 1 กรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ หนูแต่ละกลุ่มจะได้รับการป้อนเป็นเวลา 30 วัน ระหว่างทำการทดลอง บันทึกน้ำหนักตัวทุก 7 วัน เมื่อครบระยะเวลา ทำให้หนูหมดความรู้สึก เก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจเพื่อตรวจค่าโลหิตวิทยา และแยกซีรัมเพื่อตรวจค่าเคมีคลินิก นำตับมาเตรียมไมโครโซม เพื่อใช้ตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของ total CYP, สมรรถนะของ CYP 1A1, 1A2, 2B1/2, 2E1 และ 3A ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอลทั้งสองขนาด ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ อีกทั้งไม่มีผลต่อความเข้มข้นของ total CYP, สมรรถนะของ CYP 1A1, 1A2, 2B1/2, 2E1 และ 3A สารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอลทั้งสองขนาดไม่มีผลต่อค่าเคมีคลินิกและโลหิตวิทยา ต่าง ๆ ต่อไปนี้คือ AST, ALT, ALP, total bilirubin, direct bilirubin, BUN, SCr, total cholesterol, TG, LDL-C, HDL-C, glucose, sodium, potassium, chloride, hemoglobin, hematocrit, platelet count, WBC count, % differential WBCs, RBC indices (mean corpuscular volume, MCV; mean corpuscular hemoglobin, MCH; mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) และ RBC morphology จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอลไม่มีผลเปลี่ยนแปลงสมรรถนะของเอนไซม์ส่วนใหญ่ในเฟสหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นฤทธิ์ของสารก่อมะเร็ง/สารก่อการกลายพันธุ์ นอกจากนี้สารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วยเอทานอล ยังไม่มีผลต่อการทำงานของอวัยวะหรือระบบของร่างกายที่สำคัญ เช่น ตับ ไต ระบบเลือด อิเล็กโตรไลต์ รวมทั้งเมแทบอลิซึมของไขมันและคาร์โบไฮเดรต

ภาควิชาเภสัชวิทยา ลายมือชื่อนิสิต.....อัจฉรา ฉัตรสุภางค์.....

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2546 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4576627733 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: *MURDANNIA LORIFORMIS* / HEPATIC CYTOCHROME P450 / CLINICAL BLOOD CHEMISTRY / SUBACUTE TOXICITY

ACHARA CHATSUPANG : (SUBACUTE EFFECTS OF *MURDANNIA LORIFORMIS* ETHANOLIC EXTRACT ON HEPATIC CYTOCHROME P450 AND CLINICAL BLOOD CHEMISTRY IN RATS). THESIS ADVISOR : [ASST. PROF. POL. LT. COL. SOMSONG LAWANPRASERT], THESIS COADVISOR : [ASST. PROF. LADDAWAL PHIVTHONG-NGAM], [116] pp. ISBN: 974-17-4449-8.

*Murdannia loriformis* (Hassk). Rolla Rao et Kammathy is commonly called in Thai as "Ya Pak King". *M. loriformis* has been used traditionally as a remedy for many kinds of cancers. This study examined subacute effects of *M. loriformis* ethanolic extract on phase I hepatic cytochrome P450 (CYP) in rats. In addition, effects of this extract on clinical blood chemistry and hematology were also determined. Thirty male Wistar rats were randomly divided into three treatment groups, ten in each group. Rats in the first group were given distilled water 1 ml/kg/day serving as a control group. The other two groups of rats were given *M. loriformis* ethanolic extract at dosages of 0.1 and 1 g/kg/day. Each group were administered orally for 30 consecutive days. During the treatment peroid, body weight was recorded every week. At the end of the treatment peroid, rats were anesthesized. Blood samples were collected by heart puncture and serum samples were prepared for measuring hematology and clinical blood chemistry, respectively. Microsomes were prepared from livers and being used for determining concentrations of total CYP as well as activities of CYP 1A1, 1A2, 2B1/2, 2E1 and 3A. The results showed that *M. loriformis* ethanolic extract at both dosages given in this study did not affect body weight, relative liver weight, hepatic total CYP concentrations and the activities of CYP 1A1, 1A2, 2B1/2, 2E1 and 3A. Rats received both dosage regimens of *M. loriformis* ethanolic extract demonstrated no changes of the following clinical blood chemistry and hematology: AST, ALT, ALP, total bilirubin, direct bilirubin, BUN, SCr, total cholesterol, TG, LDL-C, HDL-C, glucose, sodium, potassium, chloride, hemoglobin, hematocrit, platelet count, WBC count, % differential WBCs, RBC indices (MCV, MCH, MCHC), and RBC morphology. These results suggested that *M. loriformis* ethanolic extract did not modulate the activities of the most phase I hepatic CYPs involving in carcinogenic/mutagenic bioactivation. Furthermore, no effects of this extract were shown on several important organs/systems such as liver, kidney, blood system, electrolytes as well as carbohydrate and lipid metabolism.

| | |
|---|---|
| Department Pharmacology | Student's signature Achara Chatsupang |
| Field of study Pharmacology | Advisor's signature Pol. Lt. Col. Somsong Lawanprasert |
| Academic year 2003 | Co-advisor's signature L. Phivthongngam |

# ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest appreciation and sincere gratitude to my advisor, Assistant Professor Pol. Lt. Col. Dr. Somsong Lawanprasert and my thesis co-advisor, Assistant Professor Dr. Laddawal Phivthong-ngam for their helpful advise, guidance, encouragement and constructive criticism throughout my research study which enable me to accomplish this thesis.

I would like to thank Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth for valuable advice, guidance, comments on the preparation and identification of *M. loriformis* ethanolic extract used in this study and being a committee member. Thanks are also extended to Associate Professor Dr. Mayuree Tantisira and Associate Professor Dr. Supatra Srichairat, the committee members, for their useful comments.

My appreciation is also expressed to Associate Professor Nuansri Niwattisaiwong, and Associate Professor Dr. Weena Jiratchariyakul for their kind assistance.

This study was supported in part by the Graduate School, Chulalongkorn University.

I wish to thank all staff members of the Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University as well as all staff members of the Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University for their helps.

I wish to thank the Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University and Professional Laboratory Management Corp Co., Ltd. for the assistance on determining of clinical blood chemistry and hematology.

Finally, I would like to express my deepest appreciation to my family and my friends for their helps and encouragement.

# CONTENTS

## CONTENTS *(continued)*

page

## CONTENTS *(continued)*

# LIST OF TABLES

Table page

# LIST OF TABLES *(continued)*

Table page

# LIST OF FIGURES

Figure page

## LIST OF FIGURES *(continued)*

Figure page

## LIST OF ABBREVIATIONS

| | |
|---|---|
| $AFB_1$ | = alfatoxin $B_1$ |
| ALP | = alkaline phosphatase |
| ALT | = alanine aminotransferase |
| ANOVA | = a one way analysis of variance |
| AST | = aspartate aminotransferase |
| B(a)P | = benzo(a)pyrene |
| BR | = benzyloxyresorufin |
| BROD | = benzyloxyresorufin O-dealkylase |
| BSA | = bovine serum albumin |
| BUN | = blood urea nitrogen |
| BW | = body weight |
| CD | = cluster of differentiation |
| cm | = centimeter |
| CYP | = cytochrome P450 |
| dL | = deciliter |
| DMSO | = dimethyl sulfoxide |
| DNA | = deoxyribonucleic acid |
| $ED_{50}$ | = median effective dose |
| e.g. | = exampli gratia |
| ER | = ethoxyresorufin |
| EROD | = ethoxyresorufin O-dealkylase |
| et al. | = et alii (and other) |
| fL | = femtoliter |
| g | = gram |
| G6P | = glucose 6-phosphate |
| G6PD | = glucose 6-phosphate dehydrogenase |
| GST | = glutathione S-transferase |
| Hb | = hemoglobin |
| Hct | = hematocrit |

## LIST OF ABBREVIATIONS *(continued)*

| | |
|---|---|
| HDL-C | = high density lipoprotein cholesterol |
| i.p. | = intraperitoneal |
| kg | = kilogram |
| L | = liter |
| $LD_{50}$ | = median lethal dose |
| LDL-C | = low density lipoprotein cholesterol |
| M | = molar (mole per liter) |
| MCH | = mean corpuscular hemoglobin |
| MCHC | = mean corpuscular hemoglobin concentration |
| MCV | = mean corpuscular volume |
| mEq | = miliequivalent |
| min | = minute |
| mg | = milligram |
| ml | = milliliter |
| mm | = milimeter |
| mM | = millimolar (millimole per liter) |
| mmol | = millimole |
| MR | = methoxyresorufin |
| mRNA | = messenger ribonucleic acid |
| MROD | = methoxyresorufin O-dealkylase |
| MW | = molecular weight |
| NADP | = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate |
| NADPH | = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form) |
| nm | = nanometer |
| nM | = nanomolar (nanomole per liter) |
| nmol | = nanomole |
| PAH | = polycyclic aromatic hydrocarbon |
| PBMC | = peripheral blood mononuclear cell |
| pg | = picogram |

## LIST OF ABBREVIATIONS *(continued)*

| | |
|---|---|
| pmol | = picomole |
| PR | = pentoxyresorufin |
| PROD | = pentoxyresorufin O-dealkylase |
| RBC | = red blood cell |
| r.p.m. | = revolution per minute |
| SCr | = serum creatinine |
| SEM | = standard error of mean |
| SER | = smooth endoplasmic reticulum |
| sec | = second |
| TCA | = trichloroacetic acid |
| TCDD | = 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin |
| TG | = triglyceride |
| TLC | = thin layer chromatography |
| Tris | = Tris (hydroxymethyl) aminomethane |
| U | = unit |
| UDP-GT | = uridine diphosphoglucuronosyltranferase |
| WBC | = white blood cell |
| w/v | = weight by volume |
| v/v | = volume by volume |
| XRE | = xenobiotic response element |
| $^{o}C$ | = degree celsius |
| $\beta$ | = beta |
| $\gamma$ | = gamma |
| $\alpha$ | = alpha |
| $\mu g$ | = microgram |
| $\mu l$ | = microliter |
| $\mu M$ | = micromolar (micromole per liter) |