

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากเห็บต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาว

นางสาว อังคณา เผ่าเผด็จการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีวเวชเคมี ภาควิชาชีวเคมี

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2944-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I21039641

- 5 พย. 2549

EFFECT OF WATER EXTRACT FROM *COSCINIUM FENESTRATUM*  
ON BLOOD GLUCOSE IN RATS

Miss Aungkana Paopadetkarn

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Biomedical Chemistry

Department of Biochemistry

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974 -17 - 2944 - 8

Thesis Title               Effect of Water Extract from *Coscinium fenestratum* on Blood  
Glucose in Rats.

By                           Miss Aungkana Paopadetakarn

Field of Study            Biomedical Chemistry

Thesis Advisor          Associate Professor Dr. Sunanta Pongsamart

Thesis Co-advisor      Associate Professor Dr. Sukanya Jesadanont

Thesis Co-advisor      Assistant Professor Somlak Pongshompoo

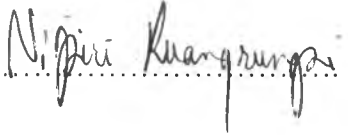
---

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.)

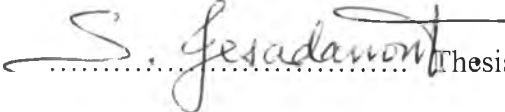
THESIS COMMITTEE

  
..... Chairman

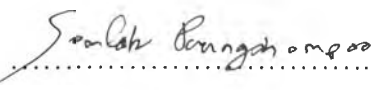
(Associate Professor Nijisiri Ruangrungsi, Ph.D.)

  
..... Thesis Advisor

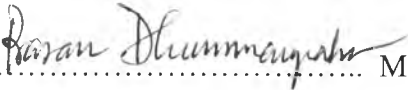
(Associate Professor Sunanta Pongsamart, Ph.D.)

  
..... Thesis Co-advisor

(Associate Professor Sukanya Jesadanont, Ph.D.)

  
..... Thesis Co-advisor

(Assistant Professor Somlak Pongshompoo, D.V.M., M.Sc.)

  
..... Member

(Associate Professor Prasan Dhumma-Upakorn, Ph.D.)

อังคณา เฝ้าเผด็จการ : ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากเห็บต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาว  
(EFFECT OF WATER EXTRACT FROM *COSCONIUM FENESTRATUM* ON BLOOD  
GLUCOSE IN RATS) อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ. ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ,  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. สุกัญญา เจษฎานนท์ และ ผศ. สพ.ญ. สมลักษณ์ พวงชมพู,  
105 หน้า, ISBN 974-17-2944-8

การศึกษาแสดงให้เห็นผลลดระดับน้ำตาลของสารสกัดด้วยน้ำจากเห็บ (*Coscinium fenestratum*) ในวงศ์ Menispermaceae ในหนูเพศผู้พันธุ์ Wistar ที่ปกติและที่เหนียวน้ำให้เกิดอาการเบาหวานโดย streptozotocin (STZ). ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนลำต้นแห้งของเห็บ (Crude water extract, CE) ในหนูปกติ โดยวิธี glucose tolerance test พบว่าทุกขนาดของสารสกัดที่ให้ได้แก่ 0.10, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม 1 ครั้ง สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่เวลา 30 นาที คิดเป็นร้อยละ 10.40, 10.97, 10.80, 11.57 และ 14.75 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งป้อนน้ำกลั่น หลังจากป้อนสารละลายกลูโคส ขนาด 1 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม. ในหนูปกติเมื่อให้สารสกัด CE ในขนาด 1 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทุกวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 14 วัน พบว่ากลุ่มที่ให้สารสกัด CE และกลุ่มควบคุมมีระดับน้ำตาลในเลือดไม่แตกต่างกัน ทั้งในวันที่ 7 และ 14. ค่าทางเคมีคลินิกและค่าโลหิตวิทยาของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ). เมื่อตรวจสอบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับและตับอ่อน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างเซลล์ และไม่พบรอยโรคในทั้ง 2 กลุ่ม. เมื่อให้สารสกัด CE ขนาด 0.1, 0.5 หรือ 1 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม 1 ครั้ง ในหนูที่เป็นเบาหวานในสภาวะไม่อดอาหาร พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่เวลา 2 และ 3 ชั่วโมง หลังจากให้สารสกัด CE. เมื่อให้สารสกัด CE ในหนูที่เป็นเบาหวาน ในขนาด 0.10, 0.50 และ 1 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทุกวันละ 1 ครั้ง เปรียบเทียบกับกลุ่มฉีดอินซูลินขนาด 5 ยูนิต/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และกลุ่มควบคุมให้น้ำกลั่น ทุกวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 14 วัน พบว่ากลุ่มของหนูที่เป็นเบาหวานที่ให้สารสกัด CE ทุกขนาด มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในวันที่ 7 และ 14 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม. ในกลุ่มหนูที่เป็นเบาหวานที่ให้สารสกัด CE ทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน พบว่าระดับโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม. เมื่อตรวจสอบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับและตับอ่อน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างเซลล์ และไม่พบรอยโรคในทุกกลุ่มที่ทำการทดลอง. เมื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน และหาขนาดของสารสกัด CE ที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 ( $LD_{50}$ ) ในหนูขาวเพศผู้ ไม่พบความผิดปกติเกิดขึ้นภายใน 1-4 ชั่วโมง หลังจากให้สารสกัด CE ขนาด 5, 10 และ 20 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม 1 ครั้ง, ไม่มีการตายเกิดขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง และตลอดระยะเวลา 5 วันของการทดลอง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้น้ำกลั่น. เมื่อตรวจสอบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับและตับอ่อน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างเซลล์ และตรวจไม่พบรอยโรคในทุกกลุ่มที่ทำการทดลอง. ขนาดของสารสกัด CE ที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 มีค่ามากกว่า 20 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม. ผลที่ได้จากการทดลองพบว่าพืชชนิดนี้ให้ผลใช้รักษาได้นำพอใจ

ภาควิชา.....ชีวเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....*อ.กวิลา อ่างเกษม*  
สาขาวิชา.....ชีวเวชเคมี.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....*สุนันท์ พงษ์*  
ปีการศึกษา.....2545.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....*สุกัญญา เจษฎานนท์*  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

# # 4376648733: MAJOR BIOMEDICINAL CHEMISTRY

KEY WORDS: *Coscinium fenestratum*/ HYPOGLYCEMIC EFFECT/ DIABETES MELLITUS  
 AUNGKANA PAOPADATKARN: EFFECT OF WATER EXTRACT  
 FROM *COSCINIUM FENESTRATUM* ON BLOOD GLUCOSE IN RATS.  
 THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SUNANTA PONGSAMART, Ph.D.,  
 THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. SUKANYA JESADANONT, Ph.D.  
 AND ASSIST. PROF. SOMLAK POUNGSHOMPOO, D.V.M., M.Sc., 105 p.  
 ISBN 974-17-2944-8

Hypoglycemic effect of crude water extract of *Coscinium fenestratum*, family Menispermaceae, in normal and streptozotocin (STZ)-induced diabetic male Wistar rats has been demonstrated. Crude water extract from dried stem of *C. fenestratum*, (CE) fed at doses 0.10, 0.25, 0.50, 0.75 or 1 g/kg body weight significantly decreased blood glucose concentration at 30 min after 1 g/kg body weight glucose feeding. Decreases were 10.40, 10.97, 10.80, 11.57 and 14.75%, respectively; as compared to the control group. No difference in blood glucose concentration were observed in normal rats fed repeated-dose of CE at 1 g/kg body weight/day, for 14 days compared to the control given distilled water. Blood chemistry and hematologic values were not different between the groups fed CE or distilled water. Histopathological findings revealed non-remarkable lesions of liver, exocrine pancreas and pancreatic islet in both groups. Feeding CE in non-fasted, diabetic rats at single doses of 0.1, 0.5 or 1 g/kg body weight showed that only CE at 1 g/kg body weight significantly decreased blood glucose concentration at 2 and 3 hr. Repeated-doses of CE were given to diabetic rats at 0.10, 0.50 and 1 g/kg body weight/day or insulin injection at 5 IU/kg body weight/day or control group given distilled water, for 14 days. CE significantly decreased blood glucose concentration on day 7 and day 14, respectively; compared to the control group. CE fed daily in diabetic rats for 14 days significantly suppressed serum cholesterol and triglyceride compared to control fed distilled water. Non-remarkable lesions in histopathological findings of liver, exocrine pancreas and pancreatic islets were found. Acute toxicity test showed no signs of abnormality within 1-4 hr after CE feeding. No mortality within 24 hr and a period of 5 days throughout the experiment was observed. Non-remarkable lesions in histopathological findings of liver, exocrine pancreas and pancreatic islets were demonstrated. LD<sub>50</sub> of CE was greater than 20 g/kg body weight. The results obtained favor the therapeutic utilization of this plant.

Department.....Biochemistry.....Student's signature.....*Aungkana Paopadatkarn*  
 Field of study...Biomedical Chemistry.....Advisor's signature.....*Sunanta Pongsamart*  
 Academic year.....2002.....Co-advisor's signature.....*S. Jesadanont*  
 Co-advisor's signature.....*Somlak Pongshompo*

## ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my sincere gratitude and appreciation to my advisor, Associate Professor Dr. Sunanta Pongsamart of the Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for her invaluable advice, attention and encouragement throughout this study. Her kindness and helpfulness are also really appreciated.

I wish to express my deepest appreciation and grateful thank to my thesis co-advisor, Associate Professor Dr. Sukanya Jesadanont from Faculty of Science and Technology, Rajabhat Institute Chandrakasem for her excellent instruction, encouragement and guidance throughout this study.

I wish to express my grateful thank to my thesis co-advisor, Assistant Professor Somlak Pongshompoo of the Division of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for her valuable advice and encouragement through this study.

I would like to acknowledge the members of my thesis committee for their valuable time to suggest a good idea for my thesis.

I would like to thank Associate Professor Dr. Penchom Peungvicha for kind advice on method of inducing diabetes in rats.

I would like to thank to my teachers, my friends and the members of the Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for their assistance and great encouragement.

I also would like to thank Ministry of University Affairs for research funds granted. The special thankfulness is also to thank Graduate School Chulalongkorn University for granting financial support to fulfill this study.

Finally, I wish to express my infinite thanks and deepest gratitude to my family for their endless love, understanding and encouragement.

# CONTENTS

	Page
ABSTRACT (Thai).....	iv
ABSTRACT (English).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	ix
ABBREVIATIONS.....	xi
CHAPTER	
I.    GENERAL BACKGROUND.....	1
II.   MATERIALS & METHODS.....	43
III.  RESULTS & DISCUSSIONS.....	50
IV.  CONCLUSIONS.....	87
REFERENCES.....	89
APPENDICES.....	102
VITA.....	105

## LIST OF TABLES

Table	Page
1. Comparison of methods for assaying urine carbohydrate.....	11
2. Criteria for diagnosis of diabetes using glucose tolerance test.....	15
3. Comparison of NDDG, WHO and ADA diagnostic categories for undiagnosed diabetes.....	17
4. Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance.....	22
5. Classification and causes of lactic acidosis.....	23
6. Level of serum enzymes in normal male Wistar rats after daily feeding CE or distilled water for 14 days.....	57
7. Biochemical analysis of serum in normal male Wistar rats after daily feeding CE or distilled water for 14 days.....	58
8. Hematological parameters of normal male Wistar rats after daily feeding CE or distilled water for 14 days.....	59
9. Level of serum enzymes in diabetic male Wistar rats after treatment for 14 days.....	70
10. Biochemical analysis of serum in diabetic male Wistar rats after treatment for 14 days.....	71
11. Hematological parameters of diabetic male Wistar rats after treatment for 14 days.....	72
12. Level of serum enzymes in normal male Wistar rats on day 5 after feeding a high oral single-dose of CE or distilled water.....	81
13. Biochemical analysis of serum in normal male Wistar rats on day 5 after feeding a high oral single-dose of CE or distilled water.....	82
14. Hematological parameters of normal male Wistar rats on day 5 after feeding a high oral single-dose of CE or distilled water.....	83



## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Qualitative test for urinary reducing substances.....	10
2. Glucose analysis with glucose oxidase/peroxidase.....	10
3. Colorimetric assay of glucose using 0-toluidine.....	13
4. Oxygen rate method for glucose analysis.....	14
5. Pathways affecting insulin secretion.....	30
6. Structure of streptozotocin.....	32
7. Spontaneous decomposition of STZ to form carbamoylation and alkylating species.....	34
8. Suggested mechanisms of alloxan and streptozotocin toxicity on the $\beta$ cell.....	35
9. <i>Coscinium fenestratum</i> from Ubonratchathani province.....	38
10. <i>Coscinium fenestratum</i> .....	40
11. Chemical structure of protoberberine alkaloids.....	41
12. Crude water extract powder (CE) of <i>C. fenestratum</i> .....	44
13. Effect of oral CE on blood glucose concentration in normal male Wistar rats; 3 hr-duration.....	51
14. Body weight of rats on day 0 and day 14 after daily oral repeated-doses of CE in normal male Wistar rats.....	53
15. Percentage of relative body weight gained on day 14 after daily oral repeated-doses of CE in normal male Wistar rats.....	54
16. Relative liver weight on day 14 after daily oral repeated-doses of CE in normal male Wistar rats.....	55
17. Effect of CE on fasting blood glucose concentration in normal male Wistar rats treated for 7 and 14 days.....	56
18. Liver, Hematoxylin and Eosin x100, normal male Wistar rats after feeding CE or distilled water for 14 days.....	60
19. Pancreas, Hematoxylin and Eosin x100, normal male Wistar rats after feeding CE or distilled water for 14 days.....	60

## LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure	Page
20. Effect of oral feeding CE on non-fasting blood glucose concentration in streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats.....	62
21. Body weight of rats on day 0 and day 14 after daily oral repeated-doses of CE in diabetic male Wistar rats.....	65
22. Percentage of relative body weight gained on day 14 after daily oral repeated-doses of CE in diabetic male Wistar rats.....	66
23. Relative liver weight on day 14 after daily oral repeated-doses of CE in diabetic male Wistar rats.....	67
24. Hypoglycemic effect of CE in streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats treated for 7 and 14 days.....	68
25. Rat liver after treatment for 14 days.....	75
26. Rats pancreas after treatment for 14 days.....	76
27. Body weight of rats on day 1–5 post-treatment with CE at a high oral single-dose.....	77
28. Percentage of relative body weight gained on day 5 post-treatment with CE at a high oral single-dose.....	78
29. Relative liver weight in rats on day 5 post-treatment with CE at a high oral single-dose.....	79
30. Rat liver after feeding a high oral single-dose of CE or distilled water.....	84
31. Rat pancreas after feeding a high oral single-dose of CE or distilled water...	85
32. Pancreatic islets, rat $\beta$ cells after feeding a high oral single-dose of CE or distilled water .....	86

## ABBREVIATIONS

CE	crude water extract of <i>Coscinium fenestratum</i>
%	percentage
°C	degree Celsius (centigrade)
g	gram (s)
hr	hour (s)
mg	milligram (s)
dl	deciliter (s)
min	minute (s)
ml	milliliter (s)
nm	nanometer (s)
mm	millimeter (s)
mol	mole
IU	insulin unit
PG	plasma glucose
STZ	streptozotocin
ALX	alloxan
S.E.M.	standard error of mean
NSS	normal saline solution
RBC	red blood cell(s)
WBC	white blood cell (s)
Hct	hematocrit
Hb	hemoglobin
Neu	neutrophils
Eos	eosinophils
Baso	basophils
Lymp	lymphocytes
Mono	monocytes