

Thesis title Effects of Lemon grass Extract on Aflatoxin B<sub>1</sub>  
Mutagenesis Activated by Liver Microsomal Enzymes  
Author Miss Jiraporn Sukbunteung  
Master of Science Biochemistry

Examining committee

Associate Professor Dr. Usanee Vinitketkumnuen	Chairperson
Dr. Damrat Supyen	Member
Dr. Werawan Ruangyuttikarn	Member
Assistant Professor Dr. Prachya Kongtawelert	Member

**ABSTRACT**

This investigation highlighted the results of lemon grass (*Cymbopogon citratus* DC Stapf), a Thai medicinal plant, inhibited Aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)-induced bacterial mutagenesis by alteration of AFB<sub>1</sub>-biotransformation. After the ethanol extracts of lemon grass was partitioned with hexane, hexane extract was found to inhibit AFB<sub>1</sub>-induced mutagenesis in *S. typhimurium* strain TA98 when using human or rat liver microsomes as activators. Ethanol extract had this effect with only rat microsomal activator. The hexane extract showed higher potency of antimutagenicity than that of ethanol extract.

The hexane extract was separated into 8 fractions (H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7 and H-8) by thin-layer chromatography (TLC). Each

fraction had antimutagenicity against AFB<sub>1</sub> when activated by rat or human microsome but different antimutagenic potency. The fraction H-4 and H-6 the highest antimutagenicity with dose-dependent against AFB<sub>1</sub> after using rat microsome as an activator, whereas the fraction H-2 and H-6 showed the highest antimutagenicity against AFB<sub>1</sub> after human microsomal activation. The ethanol extract was partially purified by Sephadex LH-20 column chromatography into 4 fractions (E-1, E-2, E-3, E-4). After rat microsomal activation AFB<sub>1</sub>, only fraction E-4 showed antimutagenicity.

The crude extract hexane and ethanol and the partially purified extract H-2, H-4, H-6 were investigated their effects on the function of cytochrome P450 and aminopyrine demethylase activity. Both crude extracts decreased the P450 content in rat and human microsomal CO-P450 binding protein and both extract also enhanced aminopyrine demethylase activity in human microsome but not in rat microsomes. All fractions of the crude hexane extract decreased the CO-P450 binding protein in human microsomes as activities found in the crude compound extract. Only fraction H-6 decreased the CO-binding P450 protein in rat microsome, while H-2 and H-4 fractions did not. The enhancement of aminopyrine demethylase activity in human microsome still persisted in all fractions but not found this activity in rat microsomes.

In conclusion, the Thai medicinal plant, lemon grass had the antimutagenic activity against AFB<sub>1</sub> activated by rat and human microsomal enzymes. The possible mechanism of its action could be inhibition of P450 enzymes and/or activation of the demethylation of AFB<sub>1</sub> biotransformation.

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดจากตะไคร้ต่อฤทธิ์ก่อการกลายของอะฟลาทอกซิน ปีหนึ่ง ที่เกิดจากการกระตุ้นโดยเอ็นไซม์ในไมโครโชมจากตับ
ชื่อผู้เขียน	นางสาว จิราภรณ์ สุขบรรเทิง
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาชีวเคมี

#### คณะกรรมการการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ	ประธานกรรมการ
ดร. ดำรัส ททรัพย์เย็น	กรรมการ
ดร. วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์	กรรมการ
ผศ.ดร. ปรัชญา คงทวีเลิศ	กรรมการ

#### บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้พบว่าสมุนไพโรไทย "ตะไคร้" (*Cymbopogon citratus* DC Stapf) ยับยั้งการกลายที่เกิดจากอะฟลาทอกซิน ปีหนึ่ง (AFB<sub>1</sub>) โดยการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของอะฟลาทอกซิน สารสกัดจากตะไคร้ส่วนเฮกเซนมีฤทธิ์ยับยั้งการกลายของซัลโมเนลลา ธัยฟิมิวเรียม สายพันธุ์ TA98 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย AFB<sub>1</sub> ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ส่วนไมโครโชมจากตับหนูขาวและตับคน ในขณะที่สารสกัดส่วนเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการกลายต่อ AFB<sub>1</sub> เมื่อใช้เอ็นไซม์จากตับหนูเป็นตัวกระตุ้นเท่านั้น สารสกัดส่วนเฮกเซนมีฤทธิ์ต้านการกลายที่เกิดจาก AFB<sub>1</sub> ได้ดีกว่าสารสกัดส่วนเอทานอล

สารสกัดหยาบส่วนเฮกเซนและเอทานอลทำการแยกให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยส่วนเฮกเซนแยกได้ 8 ส่วน (H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7 และ H-8) โดยวิธี Thin-layer chromatography (TLC) พบว่าทุก ๆ ส่วนแสดงฤทธิ์ต้านการกลายต่อ AFB<sub>1</sub> ที่ถูกกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ทั้งจากตับคนและหนูขาวแต่ผลที่ได้จากตับคนและตับหนูขาวแตกต่างกัน โดยพบว่าสารสกัดส่วน H-4, H-6 มีฤทธิ์ต้านการกลายสูง

สุดและเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารสกัดเมื่อใช้เอ็นไซม์จากตับหนูขาวเป็นตัวกระตุ้น ในขณะที่สาร ส่วน H-2, H-6 มีฤทธิ์ด้านการกลายสูงสุดและเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารสกัดเมื่อใช้เอ็นไซม์จาก ตับคนเป็นตัวกระตุ้น ส่วนสารสกัดเอธานอลทำการแยกโดย Sephadex LH-20 column chromatography ได้ 4 ส่วน (E-1, E-2, E-3 และ E-4) พบว่าเฉพาะสารในส่วน E-4 มีฤทธิ์ด้านการ กลายต่อ AFB<sub>1</sub> ที่ถูกกระตุ้นโดยเอ็นไซม์จากตับหนูขาวเท่านั้น นอกจากนี้ผลการศึกษาในหลอดทดลองของ สารสกัดตะไคร้ต่อปริมาณ cytochrome P450 และต่อการทำงานของเอ็นไซม์ aminopyrine demethylase พบว่าสารสกัดจากตะไคร้ส่วนเฮกเซนและเอธานอลสามารถลดปริมาณของ cytochrome P450 ในไมโคร โซมทั้งจากตับคนและตับหนู และสามารถเพิ่มการทำงานของเอ็นไซม์ aminopyrine demethylase ได้ใน ตับคนเท่านั้น สารสกัดเฮกเซนส่วน H-2, H-4 และ H-6 ลดปริมาณ cytochrome P450 แต่ไม่มีผลต่อ การทำงานของเอ็นไซม์ aminopyrine demethylase ในไมโครโซมจากตับหนูขาว

สรุปผลการทดลองครั้งนี้ได้ว่า สมุนไพรไทยตะไคร้มีสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งการกลายเนื่องจาก AFB<sub>1</sub> ได้เมื่อกระตุ้น AFB<sub>1</sub> ด้วยเอ็นไซม์จากตับคนและตับหนูขาว โดยอาจมีกลไกการยับยั้งเอ็นไซม์ cytochrome P450 หรือกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ demethylase ในขบวนการเปลี่ยนแปลง AFB<sub>1</sub>