

**Thesis Title** Effect of Lemon Grass Extract on Rat Hepatic and Intestinal Xenobiotic-Metabolizing Enzymes  
**Author** Miss Somsakul Thumvijit  
**Master of Science** Biochemistry

**Examining Committee**

Associated Professor Dr. Usanee Vinitketkumnuen Chairman  
Associated Professor Dr. Viboon Rattanapanone Member  
Assistant Professor Dr. Werawan Ruangyuttikarn Member

**Abstract**

Lemon grass extract, a Thai medicinal plant, has been shown to inhibit chemical-induced carcinogenesis, possibly due to modulation of xenobiotic-metabolizing enzymes. The present study has investigated the effects of lemon grass extract and its component (citral, geraniol,  $\beta$ -myrcene) on phase I xenobiotic-metabolizing enzymes (CYP450 contents, benzo(a)pyrene hydroxylase, acetanilide-4-hydroxylase, aminopyrine and NDMA demethylase) in the liver and phase II xenobiotic-metabolizing enzymes (glutathione-S-transferase (GST), UDP-glucuronyltransferase (UDP-GT), and NAD(P)H: quinone oxidoreductase (QR)) in the liver and intestinal mucosa of F344 rats. At 5 weeks of age, rats were fed with 2.0, 0.5, 0.1, 0.01 g/kg bw. of lemon grass extract or 1.0, 0.1, 0.01 g/kg bw. of citral or geraniol or  $\beta$ -myrcene by gavage every morning for 5 days. Rats in control groups were given an equal volume of 25% DMSO or corn oil. Rats were killed at the end of experiment, liver and intestine were collected to determine enzyme activities. The results showed that phase I enzymes, aminopyrine-N-demethylase activity was significantly increased in rat received lemon grass extract, or citral, or geraniol or  $\beta$ -myrcene. Benzo(a)pyrene hydroxylase activity was increased in citral treated-rats only. No modulating effects on other cytochrome P450 enzyme activities. It was also

found that GST, UDP-GT activities in liver and colonic mucosa and the QR activity in small intestine were significantly elevated in rats received lemon grass extract compared to those controls fed only vehicle. The GST, QR and UDP-GT activities were significantly increased in the liver, small intestine and colon of rats treated with citral, geraniol and  $\beta$ -myrcene, only GST in the small intestine of geraniol treated-rats and QR in colon of  $\beta$ -myrcene treated- rats showed slightly increased. It was suggested that the protection against chemical-induced carcinogenesis of lemon grass may be due to increment of the activities of detoxification enzymes such as GST, UDP-GT and QR in the liver and intestines.

From the results, it may be able to explain antimutagenic property against AFB1 or inhibitory effect on AOM-induced ACF in rat colon of lemon grass extract. Aminopyrine-N-demethylase (P450 2B) activity metabolizes AFB1 to AFQ1 which is the weaker mutagenic substance than its parent, AFB1. This enzyme activity was increased in rats received either lemon grass extract or citral or geraniol or  $\beta$ -myrcene which correlates with previous report that lemon grass inhibited AFB1 mutagenesis. Lemon grass extract showed inhibitory effect on azoxymethane (AOM)-induced ACF in rat colon in other previous study, possibility due to no effect of lemon grass on P450 2E1 to metabolize AOM to form its proximate metabolites, methylazoxymethanol (MAM), in liver, in addition the enhancement of UDP-GT by lemon grass extract may lead to increase conjugation reaction which is the detoxifying pathway of azoxymethane (AOM).

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของสารสกัดจากตะไคร้ต่อเอนไซม์ที่ใช้  
เมแทบอลิซึมสารพิษจากตับและลำไส้ของหนูขาว

ชื่อผู้เขียน นางสาว สมสกุล ชรรณวิจิตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ ประธานกรรมการ

รศ. ดร. วิบูลย์ รัตนปนนท์ กรรมการ

ผศ. ดร. วีระวรรณ เรืองบุทธิการณ กรรมการ

บทคัดย่อ

มีรายงานว่าตะไคร้ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรไทยมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดมะเร็งที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสารเคมี โดยกลไกหนึ่งที่เป็นไปได้อาจมีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเมแทบอลิซึมสารพิษ งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของสารสกัดตะไคร้และสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในตะไคร้คือ citral, geraniol และ  $\beta$ -myrcene ต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเมแทบอลิซึมสารพิษใน Phase I ได้แก่ ปริมาณ ซัยโตโครมพี450, benzo(a)pyrene hydroxylase, acetanilide-4-hydroxylase, aminopyrine และ NDMA demethylase ในตับและเอนไซม์ที่ใช้ในการเมแทบอลิซึมสารพิษใน Phase II ได้แก่ glutathione-S-transferase (GST), UDP-glucuronyl transferase (UDP-GT) และ NAD(P)H: quinone oxidoreductase (QR) จากตับ เยื่อลำไส้เล็กและเยื่อลำไส้ใหญ่ของหนูขาว ในการทดลองหนูขาวเพศผู้พันธุ์ F344 อายุตั้งแต่ 5 สัปดาห์ได้รับ สารสกัดตะไคร้ความเข้มข้น 2.0, 0.5, 0.1 และ 0.01 กรัมต่อกก. น้ำหนักตัวหรือ citral หรือ geraniol หรือ  $\beta$ -myrcene ความเข้มข้น 1.0, 0.1, 0.01 กรัมต่อกก. น้ำหนักตัวทุกวันในตอนเช้า เป็นเวลา 5 วัน ในหนูกลุ่มควบคุมจะได้รับ 25% DMSO หรือ corn oil ด้วยปริมาณที่เท่ากัน หนูทั้งหมดจะถูกฆ่าในวันที่ 6 ทำการแยกตับ

เยื่อบุลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ของหนูแต่ละกลุ่มและนำไปหาความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ผลการทดลองพบว่าการทำงานของเอนไซม์ aminopyrine-N-demethylase ซึ่งอยู่ใน Phase I เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในหนูกลุ่มที่ได้รับ สารสกัดตะไคร้, citral, geraniol และ  $\beta$ -myrcene ในหนูกลุ่มที่ได้รับ citral มีผลทำให้เอนไซม์ benzo(a)pyrene hydroxylase ทำงานเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่การทำงานของเอนไซม์ที่ต้องการซัยโตโครมพี 450 ตัวอื่นใน phase I ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับหนูในกลุ่มควบคุม สำหรับการดำเนินงานของเอนไซม์ phase II พบว่าการทำงานของเอนไซม์ GST, UDP-GT ในตับและเยื่อบุลำไส้ใหญ่ และ QR ในเยื่อบุลำไส้เล็กเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดตะไคร้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับ citral, geraniol และ  $\beta$ -myrcene มีการทำงานของเอนไซม์ GST, UDP-GT และ QR ในตับ เยื่อบุลำไส้เล็กและเยื่อบุลำไส้ใหญ่ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น เอนไซม์ GST ในลำไส้เล็กของหนูที่ได้รับ geraniol และเอนไซม์ QR ในลำไส้ใหญ่ของหนูกลุ่มที่ได้รับ  $\beta$ -myrcene เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งให้เห็นว่าการที่ตะไคร้มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสารเคมีนั้นอาจเป็นผลมาจากการที่ตะไคร้มีผลเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการลดความเป็นพิษของสารก่อมะเร็ง ได้แก่เอนไซม์ GST, UDP-GT และ QR ในตับและลำไส้

จากผลการทดลองที่ได้ อาจสามารถนำไปอธิบายถึงความสามารถของตะไคร้ที่ลดการก่อการกลายของ AFB1 และยับยั้งการเกิด ACF ในหนูที่ได้รับเอโซซิมิเทน (AOM) ได้เพราะว่าในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดตะไคร้หรือ citral หรือ geraniol หรือ  $\beta$ -myrcene พบว่ามีการทำงานของเอนไซม์ aminopyrine demethylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิด P450 2B และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ AFB1 ให้เป็น AFQ1 ซึ่งเป็นเมตะบอไลต์ของ AFB1 ที่มีฤทธิ์ก่อการกลายน้อยลง ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ว่าสารสกัดตะไคร้มีฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียที่เหนี่ยวนำโดยสารก่อมะเร็ง AFB1 และสารสกัดตะไคร้สามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็งที่ได้รับสารก่อมะเร็ง AOM ในลำไส้ใหญ่ของหนูขาว ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าการที่ตะไคร้ไม่มีผลต่อการทำงานของ P450 2E1 ในตับจึงไม่สามารถเปลี่ยน AOM ให้กลายเป็นสารตัวกลางที่ว่องไว และการที่เพิ่มการทำงานของเอนไซม์ใน phase II คือ UDP-GT จึงเร่งปฏิกิริยาการรวมตัวซึ่งเป็นการลดความเป็นพิษของสารเอโซซิมิเทน (AOM)