

Thesis title	Effects of <i>Murdannia loriformis</i> Extract on Azoxymethane-induced DNA-adducts and Aberrant Crypt Foci in Rat Colons	
Author	Miss Yaowarate Intiyot	
Master of Science	Biochemistry	
Examining committee		
	Associate Professor Dr. Usanee Vinitketkumnuen	Chairperson
	Associate Professor Dr. Duangta Kanjanapothi	Member
	Associate Professor Dr. Nirush Lertprasertsuke	Member
	Assistant Professor Dr. Prachya Kongtawelert	Member

Abstract

Murdannia loriformis is a medicinal plant used in treatment of bronchitis and to relieve ailment of neoplasm. Previous study has shown that 80% ethanolic extract of *M. loriformis* had antimutagenicity against various kinds of mutagens on *Salmonella typhimurium*, TA98 and TA100. In the present study, effects of 80% ethanolic extract of *M. loriformis* extract on DNA adduct and aberrant crypt foci (ACF) formations in rat colons were examined. One week after *M. loriformis* extract administration at the doses of 0.1 and 1.0 g/kg bw. by gavage, male F344 rats received two subcutaneous injection of azoxymethane (AOM) 15 mg/kg bw. one week apart. The rats were sacrificed 12 hr. after the second AOM injection. Colons were removed for DNA extraction and analyzed for O⁶-methylguanine and N⁷-methylguanine adducts formation by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). To determine an inhibitory effect of the plant extract on initiation stage, AOM-treated rats were continuously received the extracts and were killed 3 weeks after the second AOM injection. To study effect of the plant on the promotion stage, rats were fed with the plant extract 2 weeks after the second AOM injection and continued for 12 weeks and were sacrificed. It was found that *M. loriformis* extract reduced AOM-induced DNA adducts formation but not significant. In addition, *M. loriformis* extract significantly inhibited ACF formation both at the initiation and promotion stages of colon carcinogenesis at 56% and 17%, respectively. Interestingly, treatment with *M.*

loriformis extract could inhibit the formation of larger ACF (with four or more crypts per focus) at the promotion stage about 27%.

The effects of *M. loriformis* extract on induction of xenobiotic-metabolizing enzymes in male Wistar rats and antioxidant activity of the extract were also studied. The rats received the extract at dose 0.1 and 1.0 g/kg bw. for 30 days. Ten rats per group were sacrificed after receiving the extract for 10 days and 30 days. The results showed that after administration of the extract for 10 days aminopyrine-N-demethylase (APD) and UDP-glucuronyl transferase (UDP-GT) activities in rat livers were significantly decreased. On the contrary, after 30 day-administration resulted in a significantly induced APD, glutathione *S*-transferase and UDP-GT activities. The antioxidant activity was determined by using *t*-butylhydroperoxide-induced malondialdehyde formation. The extract showed mild antioxidant activity. It was suggested that *M. loriformis* extract affect at the initiation phase of colon carcinogenesis, but not growth or differentiation in promotion stage. The possible mechanism of chemoprotection of *M. loriformis* extract at initiation stage may be through selective alteration of enzymes in xenobiotic-metabolizing systems. Its antioxidant activity may be involved at promotion stage.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของสารสกัดจากหญ้าปักกิ่งต่อการเกิดดีเอ็นเอแอดคักส์และ aberrant crypt foci ในลำไส้ใหญ่ของหนูขาวที่ได้รับสารเอโซซิมิเทน

ชื่อผู้เขียน นางสาวเยาวเรศ อินทียศ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ	ประธานกรรมการ
รศ. ดร. ดวงตา กาญจนโพธิ์	กรรมการ
รศ. ดร. พญ. นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข	กรรมการ
ผศ. ดร. ปรัชญา คงทวีเลิศ	กรรมการ

บทคัดย่อ

หญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis*) เป็นสมุนไพรที่นำมาใช้รักษาโรคหลอดเลือดอักเสบและบรรเทาอาการเจ็บปวดเนื่องจากโรคกระเพาะ ผลการวิจัยได้พบว่าสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วย 80% อัลกอฮอล์มีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ต่อสารก่อการกลายหลายชนิดในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* (สายพันธุ์ TA98 และ TA100) งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของสารสกัดหญ้าปักกิ่งต่อการเกิด DNA adduct และ Aberrant crypt foci (ACF) ที่เซลล์ลำไส้ใหญ่ของหนูขาวตัวผู้สายพันธุ์ F344 ที่ได้รับสารก่อมะเร็งลำไส้ใหญ่ Azoxymethane (AOM) การทดลองทำโดยให้หนูขาวได้รับสารสกัดหญ้าปักกิ่งความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 กรัม/กก. น้ำหนักตัว โดยการป้อน (gavage) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อน จึงฉีด AOM เข้าได้ผิวหนังความเข้มข้น 15 มก./กก. น้ำหนักตัว สัปดาห์ละครั้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยที่หนูยังคงได้รับสารสกัดทุกวัน ในการศึกษา DNA adduct หนูจะถูกฆ่าที่ 12 ชั่วโมง

หลังจากฉีด AOM ครึ่งสุดท้ายแล้ว นำลำไส้ใหญ่ออกมาสกัด DNA และนำไปวิเคราะห์การเกิด DNA adduct (O⁶-methylguanine และ N⁷-methylguanine) โดย HPLC การศึกษาผลของสารสกัดหญ้าปักกิ่งต่อการเกิด ACF ในระยะเริ่มต้นของการเกิดมะเร็ง (Initiation stage) หนูจะได้รับสารสกัดอย่างต่อเนื่องและถูกฆ่าหลังจากได้รับ AOM ครึ่งสุดท้ายแล้ว 3 สัปดาห์ สำหรับในระยะส่งเสริมมะเร็ง (Promotion stage) หนูจะเริ่มได้รับสารสกัดหลังจากฉีด AOM ครึ่งสุดท้ายแล้ว 2 สัปดาห์และได้รับต่อเนื่องไปอีก 12 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดหนูแต่ละกลุ่มจะถูกฆ่า และนับจำนวน ACF ที่ลำไส้ใหญ่ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหญ้าปักกิ่งลดการเกิด DNA adduct ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วย AOM ได้เพียงเล็กน้อย แต่พบว่าหญ้าปักกิ่งสามารถลดการเกิด ACF ได้อย่างมีนัยสำคัญทั้งในระยะเริ่มต้นและระยะส่งเสริมมะเร็งประมาณ 56 % และ 17 % ตามลำดับ โดยเฉพาะการยับยั้งที่ระยะส่งเสริมมะเร็ง พบว่าสารสกัดหญ้าปักกิ่งยับยั้งการเกิด ACF ที่มีจำนวนมากกว่า 4 crypts/focus ได้ 27 %

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงผลของสารสกัดหญ้าปักกิ่งต่อเอนไซม์ที่ใช้ในขบวนการเมแทบอลิซึมสารพิษในหนูขาวตัวผู้พันธุ์ Wistar และทดสอบสมบัติความเป็น antioxidant ของสารสกัดหญ้าปักกิ่งด้วย โดยหนูขาวจะได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 กรัม/กก. น้ำหนักตัวเป็นเวลา 30 วัน หนู 10 ตัวจากแต่ละกลุ่มจะถูกฆ่าหลังจากการได้รับสารสกัดไปแล้ว 10 และ 30 วัน ผลการทดลองพบว่าหนูที่ได้รับสารสกัด 10 วัน การทำงานของเอนไซม์ APD และ UDP-GT ในตับ หนูลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่หนูที่ได้รับสารสกัดเป็นเวลา 30 วัน จะให้ผลการทดลองในทางตรงกันข้ามคือ เพิ่มการทำงานของ APD UDP-GT และ GST อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับคุณสมบัติการเป็น antioxidant ของสารสกัดหญ้าปักกิ่งซึ่งตรวจวัดโดยการหาปริมาณ malondialdehyde ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นได้โดยใช้ *t* - butylhydroperoxide ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหญ้าปักกิ่งมีคุณสมบัติ

สมบัติเป็น antioxidant อย่างอ่อน อาจกล่าวได้ว่าการได้รับสารสกัดหญ้าปักกิ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งได้
ในระยะเริ่มต้นของการเกิดมะเร็งถ้าใส่แต่ไม่แสดงผลให้เซลล์ที่ผิดปกติเจริญเติบโตหรือเปลี่ยนรูป
ร่างไปในระยะส่งเสริมมะเร็ง สำหรับกลไกที่อาจเป็นไปได้ในการยับยั้งการเกิดมะเร็งในระยะ
เริ่มต้นอาจมาจากการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ที่ใช้ในการเมแทบอลิซึมสารพิษโดยการได้รับสารสกัด
หญ้าปักกิ่ง ส่วนการยับยั้งในระยะส่งเสริมนั้นอาจเนื่องมาจากการเป็น antioxidant ของสารสกัด
หญ้าปักกิ่ง