ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E42144

EFFECT OF *Thunbergia laurifolia* Lindl. LEAF EXTRACT ON CADMIUM-INDUCED HEPATORENAL TOXICITIES IN RATS

PLOYPAILIN CHATTAVIRIYA

MASTER OF SCIENCE
IN TOXICOLOGY

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
SEPTEMBER 2011

b00256311

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

E42144

EFFECT OF *Thunbergia laurifolia* Lindl. LEAF EXTRACT ON CADMIUM-INDUCED HEPATORENAL TOXICITIES IN RATS

THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND
RESEARCH LIBRARY

PLOYPAILIN CHATTAVIRIYA

A THESIS SUBMITTED TO THE GRADUATE SCHOOL IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN TOXICOLOGY

THE GRADUATE SCHOOL

CHIANG MAI UNIVERSITY

SEPTEMBER 2011

EFFECT OF *Thunbergia laurifolia* Lindl. LEAF EXTRACT

ON CADMIUM-INDUCED HEPATORENAL

TOXICITIES IN RATS

PLOYPAILIN CHATTAVIRIYA

THIS THESIS HAS BEEN APPROVED
TO BE A PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN TOXICOLOGY

EXAMINING COMMITTEE

.... CHAIRPERSON
Dr. Kowit Nambunmee

.... MEMBER
Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn

.... MEMBER
Assoc. Prof. Dr. Nirush Lertprasertsuke

.... MEMBER
Assist. Prof. Dr. Sirirat Chuncharunee

THESIS ADVISORY COMMITTEE

.... ADVISOR
Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn

.... CO-ADVISOR
Assoc. Prof. Dr. Nirush Lertprasertsuke

.... CO-ADVISOR
Assist. Prof. Dr. Sirirat Chuncharunee

28 September 2011
© Copyright by Chiang Mai University

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my deepest gratitude and appreciation to Associate Professor Dr. Werawan Ruangyuttikarn, Associate Professor Dr. Nirush Lertprasertsuke and Assistant Professor Dr. Sirirat Chuncharunee, my thesis advisor and co-advisors for their special efforts, unforgettable support and excellent encouragement. This thesis could not have been accomplished without their understanding and professional guidance.

Additionally, I would like to thank the staffs at the Laboratory Animal House, Research Laboratory Equipment Center and Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University for their help and encouragement.

Thanks for all toxicology students for their friendship and encouragement.

I would like to give my special acknowledgement to the Faculty of Medicine Endowment Fund, Faculty of Medicine, Chiang Mai University for their financial support.

Finally, I am particularly grateful to my parents and family, all of whom were especially supportive and extremely helpful, for their understanding emotional assistance and endless encouragement.

Ploypailin Chattaviriya

Thesis Title Effect of *Thunbergia laurifolia* Lindl. Leaf Extract on Cadmium-Induced Hepatorenal Toxicities in Rats

Author Miss Ploypailin Chattaviriya

Degree Master of Science (Toxicology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn Advisor

Assoc. Prof. Dr. Nirush Lertprasertsuke Co-advisor

Asst. Prof. Dr. Sirirat Chuncharunee Co-advisor

ABSTRACT

E 42144

Inhabitants of Mae Sot district, Tak province, have an increased the risk of Cd toxicity due to chronic dietary exposure to cadmium (Cd). A Thai herbal medicine (*Thunbergia laurifolia* Lindl. (TL)), which is commonly used as an antidote for several poisonous agents, was tested to determine whether the leaf extract could reduce Cd induced hepatorenal toxicity. The TL leaves collected from Ob Khan National Park, Hangdong district, Chiang Mai province, were extracted, and potentially biologically active compounds were isolated by column chromatography, identified and characterized by nuclear magnetic resonance spectroscopy.

The crude leaf extract (0.1 mg extract/mL) or a fraction high in phenolic and glycoside (PG fraction) compounds (0.02 mg/mL) was administered to male Wistar rats in drinking water for 20 days before exposure to $CdCl_2$ (1.0 mg/kg, subcutaneous injection) for 20 more days. Body weight and water consumption of each rat were

E 42144

measured daily. Cd concentration in blood and urine was quantified using Zeeman-graphite furnace atomic absorption spectrophotometer. Kidney and liver were removed and examined for histopathological changes by light microscopy.

The rats treated with crude extract of TL leaves before exposure to Cd (n=6) had significantly lower incidence of abnormalities (bleeding nose, falling hair, hunched posture, swollen face, scar and muscle necrosis), and reduced food and water consumption, higher body weight, lower mortality rate and less structural damage to liver and kidney tissue than control rats (n=6) given only $CdCl_2$ ($p<0.05$). Similarly, the PG fraction also reduced systemic Cd toxicities in rats (n=5). However, the crude extract was more potent in reducing Cd renal toxicity than the PG fraction as slight proximal tubular necrosis was still observed in some rats. Both TL crude extract and the PG fraction had no toxic effect on the rats.

The Cd concentration in blood and urine of rats fed with the crude extract (n=6) were 5,089 ± 534 µg/L and 71,479 ± 23,355 µg/gCr (n=5), whereas those fed the PG fraction were 3,255 ± 306 µg/L and 105,172 ± 32,175 µg/gCr (n=5), respectively, after 20 days exposure to Cd compared to that in control rats administered only normal saline; 2.1 ± 0.1 µg/L and 1.1 ± 0.5 µg/gCr, (n=3), or TL leaf extract; 2.4 ± 0.2 µg/L and 0.8 ± 0.5 µg/gCr, (n=3). The results indicated that TL leaf extract and the PG fraction did not affect the concentrations of Cd in rat's blood and urine.

In conclusion, the TL leaf extract treatment protected rats from Cd induced liver and kidney damage and also reduced the systemic toxicity of Cd. The protective effect of the crude extract was greater than that of the PG fraction. Therefore, TL leaf extract may be useful in reducing Cd toxicity in human populations exposed to Cd in

E 42144

food and drinking water, even though it cannot prevent accumulation of Cd in blood and urine.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของสารสกัดใบรางจืดต่อความเป็นพิษต่อตับและไตที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยแคดเมียมในหนูขาว

ผู้เขียน นางสาวพลอยไพลิน ฉัตตะวิริยะ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พิษวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
รศ.ดร.พญ. นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ผศ.ดร. ศิริรัตน์ จันท์จารุณี	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

E 42144

ผู้ที่อาศัยอยู่ในอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก มีความเสี่ยงสูงในการเกิดพิษแคดเมียมที่ปนเปื้อนในอาหาร งานวิจัยนี้ได้นำรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) ซึ่งเป็นสมุนไพรไทยที่รู้จักกันดีว่าสามารถช่วยต้านพิษของสารพิษหลายชนิดได้ มาพิสูจน์ว่าสามารถช่วยลดการเกิดพิษแคดเมียมต่อตับและไตของหนูขาวได้หรือไม่ โดยเก็บใบรางจืดจากอุทยานแห่งชาติออบขาน อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาสกัด และแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี และพิสูจน์เอกลักษณ์และคุณลักษณะของสารประกอบโดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์ แมกเนติก เรโซแนนซ์ สเปกโตรสโกปี

นำสารสกัดหยาบ (crude extract) ของใบรางจืด (0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือสารสกัดที่แยกเอาเฉพาะส่วนที่มีแต่สารประกอบฟีนอลิกและไกลโคไซด์ หรือเรียกว่าสารสกัด PG (0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ผสมในน้ำให้หนูขาวเพศผู้ สายพันธุ์วิสตาร์ ดื่มเป็นเวลา 20 วัน ก่อนการฉีดสารละลายแคดเมียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าใต้ผิวหนัง เป็นเวลาต่อเนื่องกันอีก 20 วัน แล้ววัดน้ำหนักตัวและปริมาณน้ำที่หนูขาวดื่มทุกวัน เก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะของหนูขาวเพื่อตรวจวัดปริมาณแคดเมียม โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ธาตุซีแมน-กราไฟท์ เฟอเนส อะตอมมิก แอบซอบชัน สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เก็บไตและตับของหนูขาวไปตรวจหาพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์

E 42144

ผลการทดลองแสดงว่าหนูขาวจำนวน 6 ตัวที่ได้รับสารสกัดหยาบของใบรางจืดก่อนการได้รับแคดเมียมมีความผิดปกติเนื่องจากพิษแคดเมียม (เลือดออกจมูก ขนร่วง หลังโก่ง หน้าบวม แผลเป็น และกล้ามเนื้อตายบริเวณที่ฉีดสาร) ลดลง บริโภคอาหารและน้ำเพิ่มขึ้น มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น อัตราการตายลดลง และจุลพยาธิสภาพที่เกิดในตับและไตเนื่องจากพิษแคดเมียมของหนูขาวทั้ง 6 ตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบกับหนูขาวอีก 6 ตัวที่ได้รับแคดเมียมเพียงอย่างเดียว ในทางคล้ายคลึงกันผลการให้สารสกัดพีจีก็สามารถลดพิษแคดเมียมต่อระบบต่าง ๆ ในหนูขาวจำนวน 5 ตัวได้ อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบมีประสิทธิภาพลดความเป็นพิษของแคดเมียมที่ไตได้มากกว่าสารสกัดพีจี เพราะยังตรวจพบการบาดเจ็บของท่อไตส่วนต้นได้เล็กน้อยในหนูบางตัว ทั้งสารสกัดหยาบและสารสกัดพีจีไม่มีความเป็นพิษต่อหนูขาว

ปริมาณแคดเมียมในเลือดและปัสสาวะของหนูขาวจำนวน 6 ตัวที่ได้รับสารสกัดหยาบ คือ 5,089 ± 534 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 71,479 ± 23,355 ไมโครกรัมต่อกรัมครีเอตินิน และ ที่ได้รับสารสกัดพีจีจำนวน 5 ตัว คือ 3,255 ± 306 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 105,172 ± 32,175 ไมโครกรัมต่อกรัมครีเอตินิน ตามลำดับ หลังจากได้รับสารละลายแคดเมียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเป็นเวลา 20 วัน เปรียบเทียบกับหนูขาวจำนวน 3 ตัวที่ได้รับน้ำเกลืออย่างเดียว (2.1 ± 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 1.1 ± 0.5 ไมโครกรัมต่อกรัมครีเอตินิน) หรือหนูขาวอีก 3 ตัวที่ได้รับสารสกัดใบรางจืดอย่างเดียว (2.4 ± 0.2 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 0.8 ± 0.5 ไมโครกรัมต่อกรัมครีเอตินิน) ผลการทดลองนี้แสดงว่าทั้งสารสกัดหยาบ และสารสกัดพีจีไม่มีผลต่อปริมาณแคดเมียมในเลือดและปัสสาวะของหนูขาว

สรุปผลการศึกษาได้ว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถป้องกันพิษแคดเมียมต่อการทำลายโครงสร้างของตับและไตหนูขาวได้ และลดความเป็นพิษแคดเมียมต่อระบบต่าง ๆ ได้ด้วย โดยสารสกัดหยาบมีประสิทธิภาพป้องกันพิษแคดเมียมได้ดีกว่าสารสกัดแยกเฉพาะส่วนที่มีแต่สารประกอบฟีนอลิกและไกลโคไซด์ ดังนั้นสารสกัดใบรางจืดอาจมีประโยชน์นำไปใช้ลดพิษแคดเมียมในประชากรที่ได้รับแคดเมียมปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่มได้ แม้ว่าจะไม่สามารถลดปริมาณแคดเมียมในเลือดและปัสสาวะที่สะสมอยู่ได้ก็ตาม

TABLE OF CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDGEMENTS	iii
ENGLISH ABSTRACT	iv
THAI ABSTRACT	vii
LIST OF TABLES	xiii
LIST OF FIGURES	xvii
ABBREVIATIONS AND SYMBOLS	xx
CHAPTER 1 INTRODUCTION	
1.1 *Thunbergia laurifolia* Lindl.	1
General description	1
Pharmacology and toxicology studies of *T. laurifolia* Lindl.	3
Chemical constituents of *T. laurifolia* Lindl.	5
1.2 Cadmium	6
Exposure to cadmium	7
Toxicokinetics of cadmium	7
Toxicities of cadmium	9
1.3 Contamination of cadmium in Thailand	11
1.4 Detoxification of cadmium	13
1.5 Objective of the study	16

CHAPTER 2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Apparatus and chemicals 17

Apparatus 17

Chemicals 18

2.2 Obtaining of *T. laurifolia* Lindl. leaves 19

2.3 Extraction of *T. laurifolia* Lindl. leaves 19

2.4 Isolation of the *T. laurifolia* Lindl. leaf extract by column chromatography 19

2.5 Characterization of *T. laurifolia* Lindl. leaf extract constituents by NMR 20

2.6 Animal experiments 21

T. laurifolia Lindl. leaf extract preparation 21

Animal experiment 1: Studying the effect of *T. laurifolia* Lindl. leaf crude extract on cadmium induced hepatorenal toxicities 21

Animal experiment 2: Studying the effect of the selected fraction of *T. laurifolia* Lindl. leaf extract on cadmium induced hepatorenal toxicities 24

2.7 Quantification of urinary creatinine and cadmium 26

Determination of urinary creatinine 26

Determination of urinary cadmium 26

Determination of blood cadmium 27

2.8 Histopathological examination 28

2.9 Statistical analysis 28

2.10 Ethical approval 29

CHAPTER 3 RESULTS

3.1 Isolation of *T. laurifolia* Lindl. leaf extract 30

3.2 NMR spectra of the *T. laurifolia* Lindl. leaf extract 30

3.3 Animal experiment 1: Effect of *T. laurifolia* Lindl. leaf crude extract on cadmium induced hepatorenal toxicities 31

Physical appearance and behavior of rats 31

Rat's body weight 39

Water consumption 39

Urinary cadmium concentration 39

Blood cadmium concentration 39

Kidney and liver's weight of rats 44

Histopathological examination 44

3.4 Animal experiment 2: Effect of the PG fraction of *T. laurifolia* Lindl. leaf extract on cadmium induced hepatorenal toxicities 51

Physical appearance and behavior of rats 51

Rat's body weight 51

Water consumption 52

Urinary and blood cadmium concentrations 52

Kidney and liver's weight of rats 52

Histopathological examination 59

CHAPTER 4 DISCUSSION AND CONCLUSION	65
REFERENCES	69
APPENDICES	77
APPENDIX A	78
APPENDIX B	82
APPENDIX C	109
CURRICULUM VITAE	119

LISTS OF TABLES

Table		Page
1	Dried weight, solubility and ratio of solvents used in the TLC system for isolating each fraction of the *T. laurifolia* leaf extract	34
2	Number of rats in group 1 (treated with $CdCl_2$ alone) and group 2 (treated with *T. laurifolia* leaf crude extract before and during $CdCl_2$ administration) that showed abnormal appearance of Cd toxicity	38
3	Urinary Cd concentrations in rats exposed to Cd without (group 1) and with (group 2) pretreatment with *T. laurifolia* leaf crude extract	42
4	Comparison of blood Cd concentrations of rats treated with Cd only (group 1) and the concentrations of blood Cd in rats pretreated with *T. laurifolia* leaf crude extract in drinking water (group 2)	43
5	Kidney and liver's weight of the experimented rats treated with $CdCl_2$ (group 1) and rats pretreated with *T. laurifolia* leaf crude extract before $CdCl_2$ administration	46
6	Histopathological changes (grading as 0, +1 to +3 damages) of the rat's kidney after Cd induced toxicity with and without pretreatment of the TL leaf extract	49
7	Histopathological changes (grading) of the rat's liver after treatments	50

8 The day that abnormal appearances of rats caused by cadmium toxicity were seen in rats treated with $CdCl_2$ alone and in rats treated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract before $CdCl_2$ administration 53

9 Urinary and blood Cd concentrations of untreated rats (group 1) and rats treated with $CdCl_2$ (group 2), the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (F.TL) for 40 days in drinking water (group 3) and pretreated with F.TL before and during $CdCl_2$ exposure (group 4) 57

10 Kidney and liver's weight (g) of untreated rats (group 1) and treated with $CdCl_2$ (group 2), the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (F.TL) for 40 days in drinking water (group 3) and pretreated with F.TL before and during $CdCl_2$ treatment (group 4) 58

11 Histopathology grading of kidney damage in animal experiment 2 63

12 Histopathology grading of liver damage in animal experiment 2 64

13 Body weight (g) of the rats treated with $CdCl_2$ 1.0 mg/kg BW (group 1) 83

14 Body weight (g) of the rats administrated with 0.1 mg/mL *T. laurifolia* leaf extract in drinking water before and during Cd treatment (group 2) 85

15 Water consumption (mL) of the rat treated with $CdCl_2$ (group 1) 87

16 Water consumption (mL) of the rats pretreated with *T. laurifolia* leaf extract (group 2) 89

17 Urinary and blood Cd concentrations of rats in group 1 ($CdCl_2$) 91

18 Urinary and blood Cd concentration of group 2 (TL + $CdCl_2$) 91

19 Organ's weight (g) of rats in group 1 ($CdCl_2$) 92

20 Organ's weight (g) of rats in group 2 (TL + $CdCl_2$) 92

21 Body weight (g) of the control rats (group 1) 93

22 Body weight (g) of the rats treated with 1.0 mg/kg BW $CdCl_2$ (group 2) 94

23 Body weight (g) of the rats treated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract 96

24 Body weight (g) of the rats pretreated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf before and during treated with $CdCl_2$ (group 4) 97

25 Water consumption (mL) of the control rats (group 1) 99

26 Water consumption (mL) of the rats treated with 1.0 mg/kg BW $CdCl_2$ (group 2) 100

27 Water consumption (mL) of the rats treated with PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (group 3) 102

28 Water consumption (mL) of the rats pretreated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract before and during treated with $CdCl_2$ (group 4) 103

29 Urinary and blood concentrations of the control rats (group 1) 105

30 Urinary and blood concentration of Cd exposure rats (group 2) 105

31 Urinary and blood concentrations of rats treated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract for 40 days (group 3) 106

32 Urinary and blood Cd concentrations of rats pretreated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract before and during treated with $CdCl_2$ (group 4) 106

33 Organ's weight (g) of the control rats (group 1) 107

34 Organ's weight (g) of the Cd treated rats (group 2) 107

35 Organ's weight (g) of rats treated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (group 3) 108

36 Organ's weight (g) of rats pretreated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract before and during treated with $CdCl_2$ (group 4) 108

LISTS OF FIGURES

Figure		Page
1	*T. laurifolia* Lindl. leaves	2
2	*T. laurifolia* Lindl. flower	2
3	Toxicokinetic of Cd	8
4	Collection of rats urine performed by using a metabolic cage (A) and blood was collected by cannulated via jugular artery (B).	23
5	Column chromatography (50 mm diameter, 50 cm height) packed with silica gel (A), loading with crude extract of the *T. laurifolia* Lindl. leaves dissolved in 95% ethanol (B) and the fractions (500 mL) were eluted by different ratio of ethyl acetate and methanol (C).	32
6	Thin layer chromatogram of the 18 fractions of *T. laurifolia* leaf extract	33
7	NMR spectra of the 1^{st} and 3^{rd}-7^{th} fraction of *T. laurifolia* leaf extract showing no phenolic and glycoside compounds	35
8	NMR spectra of the 13^{th} fraction (A) and the 14^{th} fraction (B) of *T. laurifolia* leaf extract showing contents of phenolic and glycoside compounds	36
9	Physical appearances of the experimented rats with swollen face (B), hunched posture and scar at the injecting site (D) and bleeding nose (E) were seen after $CdCl_2$ solution (1.0 mg/kg) administration compared to the rat treated with NSS (A) or *T. laurifolia* leaf extract (C) before $CdCl_2$ administration.	37

10 Rats exposed to Cd (group 1) after day 20 suffered weight loss but the loss was much more limited in rats which consumed drinking water containing *T. laurifolia* leaf crude extract (group 2). 40

11 Water consumption of male Wistar rats in Cd treated (group 1) and pretreated with *T. laurifolia* leaf crude extract in drinking water (group 2) before (Day 1-20) and after Cd treatment (Day 21-40). 41

12 Histopathology (H&E, x400) of tubule (T) and glomeruli (G) in the kidney cortex of a normal, untreated rat (A); rat exposed to cadmium chloride at 1.0 mg/kg for 20 days (B); and rat exposed to both *T. laurifolia* leaf crude extract and $CdCl_2$ (C). 47

13 Comparison of histopathology of the liver of rat exposed to $CdCl_2$ (1.0 mg/kg BW) showing focal necrosis (red arrow), vacuolated cytoplasm, pyknotic nucleus and chromatin condensation (white arrow) and sinusoidal widening (black arrow) in B and C compared to histology of control rat (A) with normal liver. Pretreatment with *T. laurifolia* leaf crude extract before and during Cd exposure also did not show histopathology changes (D). 48

14 Body weight of rats that were subcutaneously injected with normal saline (group 1), 1.0 mg/kg BW $CdCl_2$ (group 2), feeding with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (F.TL) in drinking water (group 3) and feeding with F.TL for 20 days followed by $CdCl_2$ injection on day 21-40 (group 4). 54

15 Comparison of the average body weight of rats (n=5) treated with $CdCl_2$ 1.0 mg/kg after day 20 (red arrow) and the average body weight of rats (n=5) pretreatment with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (F.TL) before and during $CdCl_2$ administration. 55

16 Mean volume of water consumption of the experimented rats in 40 days. Group 1 was control rats treated with normal saline, group 2 was treated with $CdCl_2$ 1.0 mg/kg BW after day 20 (red arrow), group 3 was treated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (F.TL) for 40 days and group 4 was treated with F.TL and $CdCl_2$. 56

17 Histopathology of normal kidney (A) compared to structural damages of the kidney of rats treated with $CdCl_2$ showing proximal tubular necrosis and glomerular widening (B) and normal kidney of rats pretreated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (F.TL) for 40 days (C). Slightly proximal tubular necrosis and glomerular widening were seen in the liver of rats pretreatment with F.TL before and during $CdCl_2$ treatment (D). 60

18 Showing histopathology of the rats kidney as in Figure 18 with 2 times expansion (X400) 61

19 Histopathology of rats normal liver (A) compared to the damaged liver of rats treated with $CdCl_2$ (B) with focal necrosis (red arrow) and pyknotic nucleus (black arrow), and normal liver of rats pretreated with the PG fraction of *T. laurifolia* leaf extract (F.TL) in drinking water for 40 days (C) and 20 days before administration of $CdCl_2$ (D). 62

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

AAS	Atomic absorption spectrometry
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BW	Body weight
CC	Column chromatography
Cd	Cadmium
$CdCl_2$	Cadmium chloride
$CDCl_3$	Deuterated chloroform
CdO	Cadmium oxide
$CdSO_4$	Cadmium sulfate
Cr	Creatinine
° C	Degree Celsius
DMSO-d_6	Dimethyl sulfoxide-d_6
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
F.TL	The PG fraction of *Thunbergia laurifolia* Lindl. leaf extract
g	Gram
GFAAS	Graphite furnace atomic absorption Spectrometry
HCl	Hydrochloric acid
HNO_3	Nitric acid

hr	Hour
H_2O	Water
Hz	Hertz
kg	Kilogram
L	Liter
mol	Mole
mL	Milliliter
mg	Milligram
mmol	Millimole
MT	Metallothionein
NaCl	Sodium chloride
$NH_4H_2PO_4$	Monobasic ammonium phosphate
nm	Nanometer
NMR	Nuclear magnetic resonance Spectroscopy
ppb	Part per billion
ppm	Part per million
rpm	Revolutions per minute
RT	Room temperature
SEM	Standard error of the mean
TL	*Thunbergia laurifolia* Lindl. leaf crude extract
UV	Ultraviolet light

v	Volume
WHO	World Health Organization
β	Beta
μg	Microgram
μL	Microliter
O	Ortho
%	Percent