



แบบฟอร์มบทคัดย่อ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

ชื่อแผนงานวิจัย (ภาษาไทย) การศึกษาฤทธิ์ของสารสำคัญจากมังคุดเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งและการรักษาภาวะพังผืดในตับและภาวะตับแข็ง

(ภาษาอังกฤษ) Study activities of major constituents isolated from mangosteen as chemotherapy for cancers and liver fibrosis and liver cirrhosis

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2554 จำนวนเงิน 3,315,000 บาท

ทุนอุดหนุนสำหรับแผนงานวิจัย จำนวนเงินรวม 443,084 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย ตั้งแต่ วันที่ 27 สิงหาคม 2554 ถึง วันที่ 26 สิงหาคม 2555

ขอขยายเวลาการทำวิจัยถึง 26 มีนาคม 2556

หน่วยงานและผู้ดำเนินการวิจัย

หัวหน้าแผนงานวิจัย/หัวหน้าโครงการที่ 1

รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีมฉนิยน์ มุ่งการดี

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์ : 0-2644-8677 ต่อ 1133, 1136 โทรศัพท์มือถือ 0-817424561

โทรสาร : 0-2644-8692, 0-2354-4326

E-mail address: primchanien.moo@mahidol.ac.th

หัวหน้าโครงการย่อยที่ 2

รองศาสตราจารย์ วิสุทธิ์ ประดิษฐ์อาชีพ

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โทรศัพท์ 02-649-5358 โทรสาร 02-260-1532

E-mail: wisuit@swu.ac.th

ผู้ร่วมวิจัย

1. รองศาสตราจารย์ รมิดา วัฒนโกศลสิน

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โทรศัพท์ 02-664-1000 ต่อ 4604 โทรสาร 0-2600125

E-mail: ramidawa@yahoo.com

2. ศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นิโบล เนื่องตัน
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
โทรศัพท์ : 0-2419-7581 โทรสาร : 0-24199141 โทรศัพท์มือถือ 0-804481140
E-mail address: sinnt@mahidol.ac.th
3. อาจารย์ ดร. ศุภโชค มั่งมุล
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
โทรศัพท์ : 0-2644-8677 ต่อ 5630 โทรสาร : 0-2644-8700
E-mail address: pysmm@mahidol.ac.th
4. นายเอกรัฐ รอดภัย
โครงการวิจัยและพัฒนาวัคซีนสถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล
โทรศัพท์ : 0-2441-9337 โทรสาร : 0-2441-9336
E-mail address: erodpai@gmail.com
5. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อุดมศรี โชว์พิทพรชัย
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-260-2234 ต่อ 4507 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: udomsri@swu.ac.th
6. นายแพทย์ สมนึก นิลบุหงา
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-6495358 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: chengnil@hotmail.com
7. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รักษวรรณ พูนคำ
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-260-2234 ต่อ 4504 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: raksawan@swu.ac.th
8. รองศาสตราจารย์ สุนิตย์ สุขสำราญ
ภาควิชาเคมี สาขาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-664-1000 ต่อ 4604 โทรสาร 0-2600125
9. นายนพดล อินทรทัต
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-260-1532 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: noppadol@swu.ac.th

10. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุวดี ชวนไชยะกุล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

หมายเลขโทรศัพท์ 02-260-2234 ต่อ 4509 โทรสาร 02-260-1532

E-mail: suwadeec@swu.ac.th

11. ดร. สิรินันท์ พงศ์เมธิกุล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โทรศัพท์ 02-664-1000 ต่อ 4522 โทรสาร 0-2601532

E-mail: psirinun@hotmail.com

ที่ปรึกษาโครงการวิจัยที่ 2

ศาสตราจารย์นายแพทย์ สมเกียรติ วัฒนศิริชัยกุล

หน่วยงาน ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มศว

สถานที่ติดต่อ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มศว

หมายเลขโทรศัพท์ 02-2602234-5

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

ภาษาไทย

สาร α -mangostin (แอลฟาแมงโกสติน) เป็นสารสำคัญที่มีปริมาณมากที่แยกได้จากเปลือกมังคุด ซึ่งในแผนงานการวิจัยได้จัดเตรียมแยกให้บริสุทธิ์ให้มีปริมาณมากพอสำหรับการศึกษาทุกโครงการ โครงการย่อยที่ 1 เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็ง โดยศึกษาฤทธิ์ต่างๆที่มีผลต่อเซลล์มะเร็ง 10 ชนิด และโครงการย่อยที่ 2 ศึกษาผลการรักษาภาวะพังผืด และ ภาวะตับแข็งในสัตว์ทดลอง ทั้งนี้เพื่อนำผลมาประเมินศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาใหม่สำหรับการเป็นยาด้านมะเร็ง และยารักษาหรือป้องกันโรคตับ โดยจะเป็นสารสำคัญที่แยกได้จากเปลือกมังคุดที่เป็นสมุนไพรไทย

ฤทธิ์ต้านมะเร็ง พบว่าสาร α -mangostin มีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ชนิดต่าง ๆ ในรูปแบบที่แปรผันตามขนาดที่ใช้ตรวจสอบ มีค่า ED_{50} แตกต่างกันระหว่าง 5.45-18.98 μ g/ml และมีฤทธิ์ต่อหลายเซลล์ที่แรงกว่ายาควบคุม นอกจากนั้นยังพบว่า α -mangostin มีฤทธิ์ antioxidant จากผลการทดสอบด้วย DPPH assay ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมี และ ROS assay ทำการทดสอบด้วยเซลล์ ผลการศึกษาทางด้าน immunomodulation โดย การทดสอบด้วย PBMC ศึกษาผลของ α -mangostin ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์โดยการตรวจด้วย flow cytometry และ ELISA สำหรับตรวจสอบสารหลัง cytokines หลังการกระตุ้นด้วย α -mangostin แม้ว่าการตรวจเซลล์/สารบางตัว พบว่ามีความแตกต่างจากเซลล์/สารควบคุม แต่ยังไม่พบการแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงควรต้องศึกษาหาวิธีการทดลองที่เหมาะสมต่อไป หากคาดว่าสาร α -mangostin อาจมีฤทธิ์ด้านนี้

สำหรับกลไกที่ศึกษาเกี่ยวกับการเกิด apoptosis ศึกษาด้วยวิธี real time RT-PCR โดยใช้เซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ทำปฏิกิริยากับ α -mangostin และตรวจการแสดงออกของยีน Bax (เกิด apoptosis จะแสดงออกมากขึ้น), Bcl-2 (ยับยั้งกระบวนการเกิด apoptosis จะแสดงออกน้อยลง) และ cytokeratin (ตัวบ่งชี้มะเร็ง จะพบเพิ่มมากขึ้นเมื่อเป็นมะเร็ง) พบว่า ค่าสัดส่วนของ Bax/Bcl-2 มีค่ามากขึ้นเมื่อทดสอบเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ กับสาร α -mangostin แสดงการเกิด apoptosis และพบว่า cytokeratin expression ของเซลล์ที่ทดสอบกับสาร α -mangostin มีค่า Ct ซึ่งเป็นค่าที่แสดงรอบของปฏิกิริยา PCR ที่เริ่มตรวจวัดได้จากสัญญาณสี SYBR พบว่ามีค่าการแสดงออกลดลง ซึ่งเป็นการช่วยยืนยันศักยภาพของสาร α -mangostin จากมังคุด ที่จะนำมาใช้เป็นสารต้านมะเร็งได้ จึงเชื่อมั่นว่าควรทำการศึกษา antitumor activities *in vivo* ของสารบริสุทธิ์ α -mangostin ตามรูปแบบที่ได้เคยศึกษาได้ผลยับยั้งการเกิดก้อนเนื้องอกได้ดีจากสาร crude methanolic extract ของมังคุดซึ่งเป็สารตั้งต้นในการแยกสารบริสุทธิ์ α -mangostin ขณะนี้อยู่ในระหว่างรอผลการพิจารณาโครงการขอทุนจาก วช. สำหรับปี 2556 เพื่อศึกษาฤทธิ์ด้านการเกิดก้อนเนื้องอกในหนูของสาร α -mangostin ก่อนนำข้อมูลมาประมวลเพื่อการศึกษาทางคลินิก

ผลการรักษาภาวะพังผืด ภาวะตับแข็ง และการอักเสบ ในสัตว์ทดลอง: เมื่อตับได้รับการสัมผัสกับสารพิษเช่นแอลกอฮอล์หรือเชื้อไวรัสซ้ำๆ ต่อเนื่องกันเป็นเวลานานๆ เซลล์ตับจะหลั่งสารที่ก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบ ซึ่งนำไปสู่การเกิดภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็งในที่สุด โดยพบว่า activated hepatic stellate cell เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่หลักในกระบวนการเกิดภาวะพังผืด และภาวะตับแข็ง จากข้อมูลทางการวิจัยในปัจจุบันพบว่าสารอัลฟาแมงโกสตินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และต้านการก่อสารอนุมูลอิสระ จากเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อประเมินฤทธิ์ของสารอัลฟาแมงโกสตินในการรักษาภาวะตับอักเสบ ภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็ง โดยทำการทดลองในหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารไฮโออะเซตาไมด์ ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ฉีดเข้าใต้เยื่อช่องท้องเป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือนตามลำดับ หลังจากนั้นรักษาด้วยการฉีดสารอัลฟาแมงโกสตินขนาด 25 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่ออีกเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยเปรียบเทียบหนูทดลองทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทำการรักษาด้วย celebrex ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมซึ่งเป็นยามาตรฐานที่ใช้รักษาการอักเสบ (positive control) จากนั้นนำตับของหนูแต่ละกลุ่ม มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยทำการย้อมเนื้อเยื่อตับด้วยสีย้อม H&E เพื่อประเมินภาวะการอักเสบและภาวะพังผืดในตับ และด้วยสีย้อม Picro Sirius Red เพื่อประเมินปริมาณของเส้นใยคอลลาเจนที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อตับ นอกจากนี้การศึกษายังใช้เทคนิค immunohistochemistry เพื่อดูการแสดงออกของ alpha smooth muscle actin (α -SMA) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิด activated hepatic stellate cell ในตับ ดูการแสดงออกของเอนไซม์ cyclooxygenase2 (Cox-2) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะการอักเสบในตับ และรวมถึงการแสดงออกของ glutamine synthetase (GS) และ carbamoyl phosphate synthetase (CPS) เพื่อประเมินภาวะหน้าที่การกำจัด ammonia ของตับ นอกจากนี้ยังทำการตรวจวัด liver function tests ในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มด้วย ผลจากการวิจัยพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารไฮโออะเซตาไมด์เป็นเวลา 1 เดือนเกิดภาวะตับอักเสบ และหนูกลุ่มที่

ได้รับเป็นเวลา 2 เดือนเกิดภาวะพังผืดในตับ ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับเป็นเวลา 3-4 เดือนเกิดภาวะตับแข็ง และพบว่า สารอัลฟาแมงโกสทิน ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีฤทธิ์ในการรักษาภาวะตับอักเสบและภาวะพังผืดในตับ ได้ดีมาก โดยไปช่วย 1) ลดการอักเสบและการตายของเซลล์ตับ ซึ่งประเมินจากผลของเนื้อเยื่อตับที่ย้อมด้วย H&E และผลการแสดงออก Cox-2 ในเนื้อเยื่อตับ 2) ลดปริมาณการเกิดเส้นใยคอลลาเจนในตับ ซึ่งประเมินจาก ผลเนื้อเยื่อตับที่ย้อมด้วย Picro Sirius Red 3) ลดปริมาณของ activated hepatic stellate cell ในตับ ซึ่ง ประเมินจากการแสดงออก α -SMA-positive cells ในเนื้อเยื่อตับ 4) ช่วยให้เกิดการคงสภาพของการแสดงออก ของ CPS ในเซลล์ตับให้เป็นแบบ zonation heterogeneity คล้ายกับตับในกลุ่มควบคุม 5) ลดระดับของ ALT ในกระแสเลือดลง ซึ่งโดยปกติปริมาณที่เพิ่มขึ้นของ ALT ในกระแสเลือดจะแปรผันตามความรุนแรงการโรคตับ แต่อย่างไรก็ตามสารอัลฟาแมงโกสทิน ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ยังมีฤทธิ์ต่อการรักษาภาวะตับแข็งได้ไม่ ดีพอ แต่ยังสามารถดีกว่าหนูกลุ่มตับแข็งที่ได้รับการรักษาด้วยสารอัลฟาแมงโกสทิน ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และยังดีกว่าหนูกลุ่มตับแข็งที่ได้รับการรักษาด้วย celebrex รวมถึงกลุ่มหนูตับแข็งที่ไม่ได้รับการรักษาใดๆ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาขั้นพื้นฐาน ยังไม่สามารถบอกถึงกลไกในการออกฤทธิ์ของสารอัลฟาแมงโกสทินในการรักษาภาวะตับอักเสบและภาวะพังผืดในตับ ได้ เพื่อพิสูจน์ประสิทธิภาพของสารอัลฟาแมงโกสทินต่อ การรักษาภาวะตับอักเสบและภาวะพังผืดในตับ ควรต้องทำการศึกษาวิจัยเชิงลึกถึง pharmacodynamics และ pharmacokinetics ของสารอัลฟาแมงโกสทินในอนาคตต่อไป

แรพที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารโรโออะเซตาไมด์ ฉีดเข้าใต้เยื่อช่องท้องเป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน ตามลำดับ หลังจากนั้นรักษาด้วยการฉีดสารอัลฟาแมงโกสทินขนาด 25 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่ออีก เป็นระยะเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบหนูทดลองทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุม ตัวอย่างที่ได้จากสัตว์ทดลอง ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะการอักเสบด้วย realtime- reverse transcriptase (RT)-PCR สำหรับยีนของเอนไซม์ cyclooxygenase1 (COX-1) เอนไซม์ cyclooxygenase2 (COX-2) และ collagen-type I รวมไปถึงโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ apoptosis ด้วยวิธี Western blotting ของ Bax (proapoptosis), Bcl2 (antiapoptosis) และ p53 (tumor suppressor gene)

ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างการแสดงออกของยีน cyclooxygenase1 (COX-1) cyclooxygenase2 (COX-2) และ collagen-type I จากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีน p53, Bax และ Bcl2 พบว่าแอลฟาแมงโกสทินมีผลการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน p53, Bax และเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน Bcl2 ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 1 เดือน 2 เดือน และ 4 เดือน ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้ใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาผล ของแอลฟาแมงโกสทิน ในการการรักษาภาวะการเกิดพังผืดในตับจากการถูกเหนี่ยวนำให้เป็นตับแข็งในเชิงลึกต่อไป

อย่างไรก็ตามกลไกของกระบวนการเกิดภาวะตับแข็ง อาจมีกลไกอื่นนอกเหนือจากกระบวนการ apoptosis มาเกี่ยวข้อง ดังนั้นอาจต้องศึกษากระบวนการยับยั้งการตายแบบ apoptosis ในเชิงลึกและกลไกอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไป

ภาษาอังกฤษ

Garcinia mangostana (mangosteen) possesses α -mangostin as a major constituent at high amount in pericarp. In the study plan, the purified α -mangostin in high quantity for all experiments were isolated. The substance was used to identified the anticancer activities in 10 cell lines by various methods. Another area of study was performed *in vivo* study the effect of α -mangostin on liver myofibrosis, liver, liver function test and inflammation. The ultimate goal of the study is to evaluate the data obtained for future development α -mangostin as new drugs for anticancer and drug for the treatment or prophylaxis of liver disease.

Cytotoxic activities of α -mangostin from *G. mangostana* and paclitaxel were demonstrated the effect on antiproliferation against 10 cancer cell lines, human breast cancer cell lines (SKBR3, BT549, BT474, MCF-7, MDA-MB-231), ovarian cell lines (OV-CAR-3, SKOV3), colon cell lines (CACO-II, SW620), and hepatocellular carcinoma cell line (HepG2) in a dose-dependent manner by MTT assay. However, the different types of cancer cells were shown in the different effect on antiproliferation (ED_{50} μ g/ml were obtained between 5.45-18.98 μ g/ml). Some cell lines showed ED_{50} μ g/ml less than standard drug used.

α -mangostin was also shown the antioxidation properties in DPPH assay and ROS assay in cell. The immunomodulation in cells were also studied using PBMC treated with α -mangostin and measured the differences compared to control cell by flow cytometry and ELISA for cytokines measurement. Some markers showed the difference in cell number comparing with control but not significantly. The future study in this area needed to be performed.

Study on mechanism of apoptosis, real time RT-PCR was performed to evaluate the gene expression from cancer cells after treated with α -mangostin. RNA from treated cells isolated and one step RT-PCR was performed to detect the expression of Bax (induction of apoptosis) and Bcl-2 (inhibition of apoptosis) genes. Ratio of Bax and Bcl-2 genes were increased since Bax gene was higher express than Bcl-2.

The study was also confirmed with the cytokeratin (a tumor marker) gene expression. The data demonstrated the Ct In a real time RT-PCR assay a positive reaction is detected by accumulation of a fluorescent signal; SYBR. The Ct (cycle threshold) is defined as the number of cycles required for the fluorescent signal to cross the threshold (ie exceeds background level). Ct levels are inversely proportional to the amount of target nucleic acid in the sample (ie the lower the Ct level the greater the amount of target nucleic acid in the sample).

From all the results obtained, they showed the potential of α -mangostin as a new anticancer drug. The previous result of *in vivo* study from crude methanolic extract which is the starting material for purified α -mangostin showed the promising effective outcome. The further antitumor activities *in vivo* study is in need from the NRCT support before summarizing the information for clinical study.

Study on liver myofibrosis, cirrhosis and inflammation: Long-term approach to some toxic substances e.g. alcohol or viral infection could bring into liver inflammation, liver fibrosis and eventually liver cirrhosis. It has been known that activated hepatic stellate cell mainly participated in fibrotic and cirrhotic formation. Since α -mangostin (α M), a major component of mangosteen pericarp, has been proven to perform anti-inflammation and anti-oxidation properties, the present study therefore aimed to investigate whether it could cure the liver inflammation, liver fibrosis and liver cirrhosis. This experiment was performed in rat model. In order to induce inflammation, fibrosis and cirrhosis, rats were administered intraperitoneally three times a week with 200 mg/kg of thioacetamide (TA), a known hepatotoxin, for 1, 2, 3 and 4 months, respectively. Animals in each group were then either left untreated or treated by intraperitoneal injections of α M at 25 mg/kg and 100 mg/kg or by standard anti-inflammation drug, celebrex, at 5 mg/kg for another 1 month. After sacrificing the animals in each group, blood samples were collected by cardiac puncture in order to analyze liver function tests. The livers were then immediately dissected and processed for light microscopic study. In order to analyze the profile of liver inflammation, some liver tissues were stained with standard H&E. To detect the collagen fibers, some tissues were dyed with Picro Sirius red. In addition, with immunohistochemistry technique, this study also aimed to evaluate the expression of alpha smooth muscle actin (α -SMA) and cyclooxygenase2 (Cox-2), indicators for revealing quantity of activated hepatic stellate cell and inflammation status in the liver, respectively. Last goal of the present study was to elucidate the immunoexpression of ammonia-metabolizing enzymes, namely; glutamine synthetase (GS) and carbamoyl phosphate synthetase (CPS) in the liver sections. These enzyme expression patterns used to imply the ammonia detoxifying function of the liver. The results confirmed that TA treatment for 1, 2 and 3 or 4 months could induce hepatic inflammation, fibrosis and cirrhosis in the rat, respectively. Compared to the control and celebrex-treated- or to 25 mg/kg- α M-treated groups, it was clearly shown that α M at 100 mg/kg has great property to cure the hepatic inflammation and liver fibrosis. This supported by

the following evidences observed in the livers: 1) reduced inflammation and apoptosis/necrosis, 2) decreased collagen deposit, 3) reduced quantity of α -SMA-positive cells reflecting the number of activated hepatic stellate cells, 4) maintained the normal expression profile of CPS, and 5) decreased ALT level. In contrast, treatment with 100 mg/kg α M did not yet success to cure the liver cirrhosis. In comparison with that with 25mg/kg α M, it gave better results in term of histomorphology. The results of this study provide a basis for further investigations the pharmacodynamics and pharmacokinetics of α M involving the liver fibrosis/cirrhosis research.

Rats received intra-peritoneal injections of TAA per week for 1, 2, 3, and 4 months. After that, the animals were either left untreated or treated by intra-peritoneal injections of α M at 25 mg/kg and 100 mg/kg or vehicle (DMSO) for 1 month. Finally, the inflammatory markers cyclooxygenase1 (COX1) and (cyclooxygenase2) COX2 and the fibrosis marker collagen-I were determined by RT-PCR analysis of RNA from the liver. In addition, the markers of programmed cell death, Bax (pro-apoptotic) and Bcl2 (anti-apoptotic), and the tumor suppressor p53 were detected by Western blot analysis.

Compared to the treatment with vehicle alone, α M showed no statistically difference in the expression of cyclooxygenase1 (COX1), cyclooxygenase2 (COX2) and collagen-I expression in rats treated with TAA. The expression of Bax and p53 was decreased, whereas the Bcl2 was increased at 1, 2 and 4 months by α M treatment. The expression of p53 was decreased by α M relative to control treatment.

Therefore, the conclusions are α M influences several important markers of liver cirrhosis in this experimental model. The results of this study provide a basis for further investigations of α M in liver cirrhosis research