



246882



รายงานฉบับสมบูรณ์

ผลของสารประกอบเชิงซ้อนโอลิโกเมอร์ค โปรแอนโทรซัยยานิดินจาก
สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามต่อการเกิดมะเร็งตับในระยะเริ่มต้นและ
กลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันอนุมูลอิสระ

Effect of Oligomeric proanthocyanidin complexes from Tamarind
(*Tamarindus indica* L.) husk on early stages of rat hepatocarcinogenesis
and its possible mechanism for antioxidant system

ผศ.ดร. รวีวรรณ (พัธนาโชคชัย) วงศ์ภูมิชัย

สิงหาคม 2553

600251437

246882



สัญญาเลขที่ MRG4980171

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



246882

รายงานฉบับสมบูรณ์

ผลของสารประกอบเชิงซ้อนโอลิโกเมอริก โปรแอนโทแรซยานิดินจากสารสกัด
เปลือกหุ้มเมล็ดมะขามต่อการเกิดมะเร็งตับในระยะเริ่มต้นและ
กลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันอนุมูลอิสระ

Effect of Oligomeric proanthocyanidin complexes from Tamarind
(*Tamarindus indica* L.) husk on early stages of rat hepatocarcinogenesis
and its possible mechanism for antioxidant system

ผศ.ดร. รวิวรรณ (พัธนาโชคชัย) วงศ์ภูมิชัย
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) ประจำปีพ.ศ. 2549 ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศ.ดร.ไมตรี สุทธิจิตต์ และ Prof.Dr. Shoji Fukushima, MD. ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดงานวิจัยและขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี ขอขอบคุณ รศ.ดร.สุกัญญา วงศ์พรชัย ที่ช่วยวิเคราะห์โครงสร้างสารสำคัญของสารสกัด และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือสำหรับวิจัยทางการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย ขอขอบคุณหน่วยสัต์วัดผล คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่เลี้ยงหนูทดลอง นอกจากนี้ขอขอบคุณ รศ.ดร.พญ. นิรัช เลิศประเสริฐสุข ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการให้คำปรึกษาทางด้านจุลพยาธิวิทยา และ Prof. Hideki Wanibuchi Department of Pathology, School of Medicine, Osaka City University, เมืองโอซาก้า ประเทศญี่ปุ่น ที่เอื้อเฟื้อให้ใช้เครื่องมือ Image analyzer ในการวิเคราะห์ผลการย้อม GST-P positive foci ของชิ้นเนื้อตับ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ น.ส.ณัฐพร ดาลัยและ น.ส.อุษณีย์ ตั้งจิตรพิทักษ์ นักศึกษาปริญญาตรี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้

ผศ.ดร.รวีวรรณ (พัชนาโชดชัย) วงศ์ภูมิชัย

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG4980171

ชื่อโครงการ : ผลของสารประกอบเชิงซ้อนโอลิโกเมอร์ โปรแอนโทรซัยยานินจากสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามต่อการเกิดมะเร็งตับในระยะเริ่มต้นและกลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันอนุมูลอิสระ

ื่อนักวิจัย : ผศ.ดร.รวิวรรณ วงศ์ภูมิชัย (พัชณาโชคชัย)

สถาบัน : ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่

E-mail Address : rawibiochem@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

246882

มะขามมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Tamarindus indica* L. จัดเป็นพืชกินได้ที่สำคัญของประชากรไทยที่ถูกใช้เป็นยาสมุนไพรและในอุตสาหกรรมอาหาร การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง การศึกษารังนี้จึงทำการศึกษาความปลอดภัยในการใช้สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามในสัตว์ทดลองและผลต่อการเกิดมะเร็งตับในระยะเริ่มต้นและกลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันอนุมูลอิสระ ทำการสกัดเอาส่วนไขมันในเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามออกด้วยเฮกเซนและสกัดต่อด้วยเมทานอล ผลการทดลองพบว่า มีองค์ประกอบของสารประกอบโพลีฟีนอล สารฟลาโวนอยด์และโปรแอนโทรซัยยานิน เท่ากับ 235.9, 168.0 และ 9.0 มิลลิกรัมต่อผงมะขามหนึ่งกรัม ตามลำดับ โดยสารประกอบโพลีฟีนอลหลักที่พบในสารสกัดส่วนเมทานอลนี้ ได้แก่ Procyanidin dimer และProcyanidin trimer

จากการศึกษาความเป็นพิษพบว่าสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามมีความปลอดภัยแก่หนูทดลองและเมื่อให้สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเข้มข้น 20-500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เป็นเวลา 14 วัน พบว่าไม่เหนี่ยวนำภาวะเครียดออกซิเดชัน แต่มีระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ Glutathione peroxidase, Heme oxygenase และGlutathione S- transferase ในตับเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามกลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 500 มก.ต่อกิโลกรัมมีแนวโน้มน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

จากการทดสอบฤทธิ์ก่อมะเร็งและต้านมะเร็งตับหนูขาว โดยการให้สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม 20, 100 และ 500 มก.ต่อกิโลกรัมทางปาก เป็นเวลา 6 สัปดาห์ หลังจากฉีดสารก่อมะเร็งไดเอทิลอะมีน 200 มก.ต่อกิโลกรัมทางช่องท้องในสัปดาห์แรกของการทดลองและในสัปดาห์ที่ 3 ทำการตัดตับออกบางส่วนเพื่อกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ตับที่ผิดปกติ พบว่าสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามไม่เหนี่ยวนำการเกิดรอยโรคก่อนเกิดมะเร็ง GST-P positive foci ในตับแต่ที่ความเข้มข้น 20มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ลดจำนวนและขนาดของ GST-P

246882

positive foci ในหนูที่ฉีดไดเอทิลไนโตรซามีน นอกจากนี้พบว่าสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม ที่ความเข้มข้นต่ำยังยับยั้งจำนวน PCNA ซึ่งเป็น marker ของการเพิ่มจำนวนเซลล์ในเซลล์ตับ ทั้งส่วนที่เกิดรอยโรคมะเร็งตับ (ใน GST-P positive foci) และเซลล์ตับบริเวณรอบๆ positive foci และสารสกัดอย่างใดมีผลเหนี่ยวนำกัมมันตภาพของเอนไซม์ Glutathione S- transferase ในตับ แต่ไม่มีผลต่อระดับกลูตาไธโอนในตับเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารก่อมะเร็งไดเอทิลไนโตรซามีนเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามพบว่าการให้สารสกัดที่ความเข้มข้นสูงไม่มีผลป้องกันการเกิดมะเร็งตับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีปริมาณแทนนินสูง จึงส่งผลกระทบต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ในการย่อยและระบบการดูดซึมในทางเดินอาหาร

จากผลการวิจัยโดยสรุป สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามที่มีองค์ประกอบของ Procyanidin dimer และ Procyanidin trimer มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งตับในระยะเริ่มต้นโดยไปยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ตับที่ผิดปกติและส่งเสริมเอนไซม์กำจัดสารพิษในตับ อย่างไรก็ตามควรมี การศึกษาฤทธิ์ป้องกันมะเร็งชนิดอื่นรวมทั้งความเป็นไปได้ในการรักษามะเร็งต่อไปในอนาคต

คำหลัก : มะขาม มะเร็งตับ การป้องกันการเกิดมะเร็ง

Abstract

Project Code : MRG4980171

Project Title : Effect of Oligomeric proanthocyanidin complexes from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) husk on early stages of rat hepatocarcinogenesis and its possible mechanism for antioxidant system.

Investigator : Assistant Professor Rawiwan Wongpoomchai (Puatanachokchai)

Department of biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

E-mail Address : rawibiochem@yahoo.com

Project Period : 2 years

246882

Tamarind (*Tamarindus indica* L.) has been used as food seasoning and traditional medicines. The previous study found its methanolic extract presented in vitro antioxidant activity. No study has been published in the scientific literature about its toxicological profile and antitumor activity in animal model. The recent study aimed to investigate the toxicity and the effect on early stages of hepatocarcinogenesis in rat of tamarind husk extract including its protective mechanism. The tamarind husk was defatted by hexane and extracted by methanol to obtain crude methanolic extract. The amount of total phenolic compounds, total flavonoids and proanthocyanidins were 235.9, 168.0 and 9.0 milligram per a gram of dried tamarind husk powder, respectively. By using LC-MS, the main polyphenol compounds in tamarind husk extract were proanthocyanidin dimer and proanthocyanidin trimer.

In the acute toxicity test, oral administration of 5000 mg/kg of tamarind husk extract produced neither mortality nor significant changes in behavior and gross appearance of the internal organs of male wistar rats. In subacute toxicity study, no mortality and some blood biochemical changes were observed when the three doses of 20, 100 or 500 mg/kg/day of tamarind husk extracts when tamarind husk extracts were administered orally for a period of 14 days. Furthermore, crude extract of tamarind husk did not affect on some oxidative stress markers but it enhanced

246882

some antioxidant enzyme activities including glutathione peroxidase, heme oxygenase and glutathione S- transferase in the liver. However, the high dose of tamarind extract, 500 mg/kg bw tended to decrease body weight change.

Next, the study aimed to investigate inhibitory effects of tamarind husk extract on the early stages of rat hepatocarcinogenesis. Male wistar rats were divided into 6 groups. Groups 1- 4 were intraperitoneally injected by diethylnitrosamine (DEN), a genotoxic hepatocarcinogen, at the first week of an experiment and groups 5 and 6 were received saline injection. All rats were partially hepatectomized at the third week to amplify initiated hepatocytes. Groups 2 and 3 were fed with extract at concentrations of 20 and 100 mg/kg bw, respectively for 6 weeks. Groups 4 and 6 were administered high dose of crude extract. All rats were sacrificed at the end of week 8. Tamarind husk extract did not affect on body weight change, some vital organ weights and liver function test. It did not affect on preneoplastic lesions, glutathione-S-transferase placental form, in the rat livers. However, the extract at low concentration, 20 mg/kg bw, reduced both number and area of preneoplastic lesions in liver initiated by DEN. It also decreased number of PCNA, a cellular proliferation marker, and increased glutathione and glutathione S-transferase activity in the rat liver treated with DEN. High concentration of tamarind husk extract, 500 mg/kg bw, did not show any protective effect. It might cause from high content of tannin which interfere the absorption and protein utilization in the body.

It might be concluded that the tamarind husk extract, mainly containing procyanidin dimer and procyanidin trimer presented inhibitory effect of on the early stages of hepatocarcinogenesis in rat after initiated by diethylnitrosamine. The inhibitory mechanism might be due to enhancement detoxifying system and suppression of cellular proliferation in the rat liver. These results

Keywords: Cancer Chemoprevention, Hepatocarcinogenesis, Tamarind