

<b>Thesis Title</b>	Effect of <i>Thunbergia laurifolia</i> Lindl. Leaf Extract on Cadmium-Induced Hepatorenal Toxicities in Rats	
<b>Author</b>	Miss Ploypailin Chattaviriya	
<b>Degree</b>	Master of Science (Toxicology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn	Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Nirush Lertprasertsuke	Co-advisor
	Asst. Prof. Dr. Sirirat Chuncharunee	Co-advisor

### ABSTRACT

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<sub>2</sub> (1.0 mg/kg, subcutaneous injection) for 20 more days. Body weight and water consumption of each rat were

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<sub>2</sub> ( $p < 0.05$ ). 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  $5,089 \pm 534 \mu\text{g/L}$  and  $71,479 \pm 23,355 \mu\text{g/gCr}$  (n=5), whereas those fed the PG fraction were  $3,255 \pm 306 \mu\text{g/L}$  and  $105,172 \pm 32,175 \mu\text{g/gCr}$  (n=5), respectively, after 20 days exposure to Cd compared to that in control rats administered only normal saline;  $2.1 \pm 0.1 \mu\text{g/L}$  and  $1.1 \pm 0.5 \mu\text{g/gCr}$ , (n=3), or TL leaf extract;  $2.4 \pm 0.2 \mu\text{g/L}$  and  $0.8 \pm 0.5 \mu\text{g/gCr}$ , (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

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



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดใบรางจืดต่อความเป็นพิษต่อดับและไตที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย แคดเมียมในหนูขาว	
ผู้เขียน	นางสาวพลอยไพลิน ถัดตะวีริยะ	
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พิษวิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. วีระวรรณ เรืองอุทธิการณ	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รศ.ดร.พญ. นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ผศ.ดร. ศิริรัตน์ จันท์จารุณี	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

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

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

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

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

สรุปผลการศึกษาได้ว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถป้องกันพิษแคดเมียมต่อการทำลายโครงสร้างของตับและไตหนูขาวได้ และลดความเป็นพิษแคดเมียมต่อระบบต่าง ๆ ได้ด้วย โดยสารสกัดหยาบมีประสิทธิภาพป้องกันพิษแคดเมียมได้ดีกว่าสารสกัดแยกเฉพาะส่วนที่มีแต่สารประกอบฟีนอลิกและไกลโคไซด์ ดังนั้นสารสกัดใบรางจืดอาจมีประโยชน์นำไปใช้ลดพิษแคดเมียมในประชากรที่ได้รับแคดเมียมปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่มได้ แม้ว่าจะไม่สามารถลดปริมาณแคดเมียมในเลือดและปัสสาวะที่สะสมอยู่ได้ก็ตาม