

Title Development of screening tests for oestrogenic activity of extracts of some Northern Thai plants and investigations of their effects on mammary gland development in mice.

Thesis Master of Science (Biology) Chiang Mai University 2522.

Name Sansanee Sawatdipong.

Abstract

A rapid test for determination of oestrogenic activity of plant extracts based on the immature mouse uterine weight increase was developed. The test involved the use of three litter-mate-balanced groups of 5 mice each injected subcutaneously with 0.02 ml. of blank solution, a previously selected minimum effective dose of standard oestrogen or 10 mg. of the relevant plant extract at 0, 12, 24, 36 and 48 hours and killed at 60 hours and the uterine weight per body weight of each animal determined. Ideally, this test can detect oestrogenicity of extracts with an activity as low as 10^{-6} x that of oestradiol valerate.

Five plants were tested :- Red Gwow (unidentified plant) tuber, White Gwow (Pueraria mirifica) tuber, Hairy Gwow (unidentified plant) tuber, Nutgrass (Cyperus rotundus) tuber and Peacock Crest (Caesalpinia pulcherrima) leaf. Neither Red Gwow tuber nor Nutgrass tuber showed oestrogenic activity in extracts containing methanol-soluble-water-

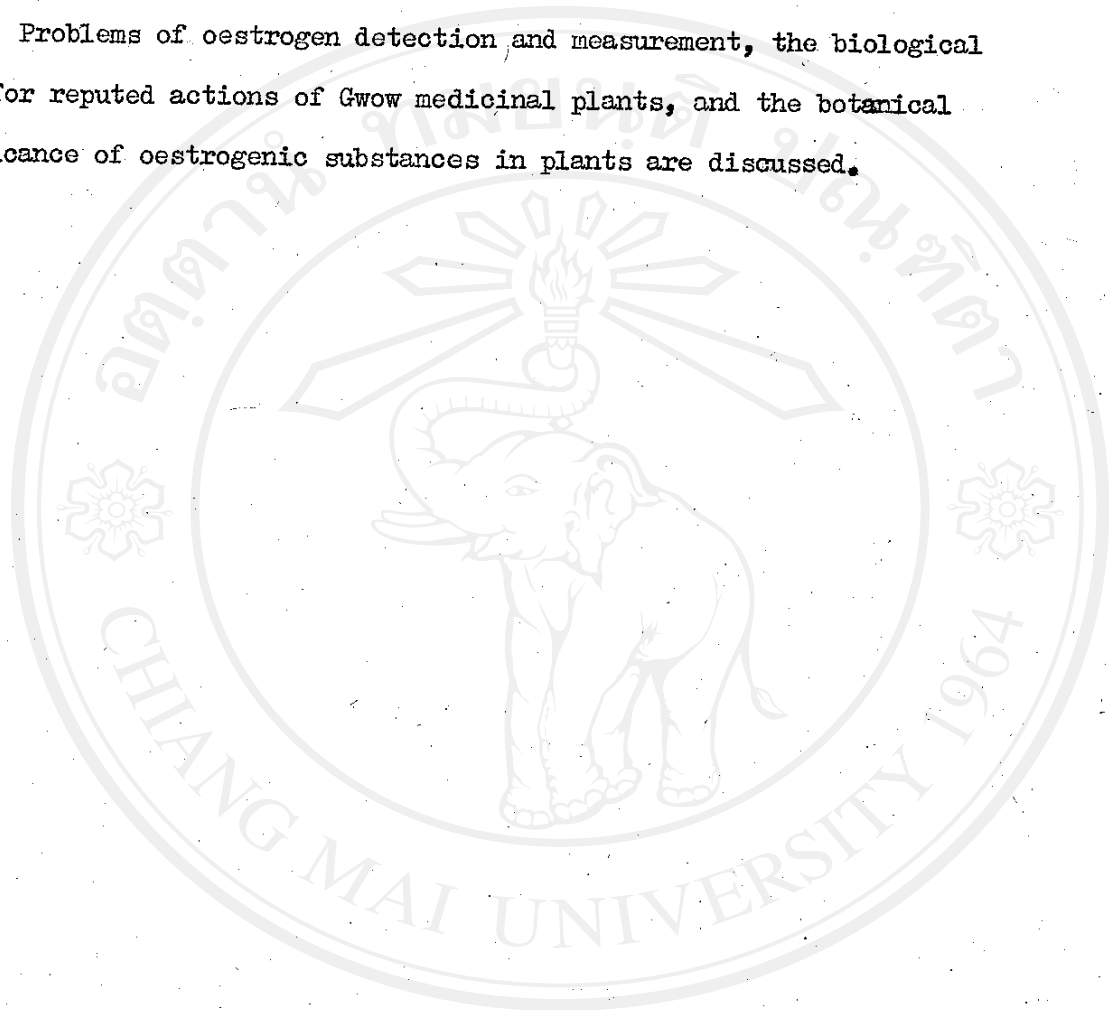
insoluble, water-soluble-methanol-insoluble or methanol-and-water-soluble components and Peacock Crest leaf showed no activity in the one crude methanolic extract tested. However, White Gwow tuber showed oestrogenic activity in an extract containing methanol soluble components but not in an extract containing water-soluble-methanol-insoluble components. Hairy Gwow tuber showed oestrogenic activity in an extract containing methanol-soluble-water-insoluble components and an extract containing methanol-and-water-soluble components. Oestrogenic activity was suggested but not confirmed in an extract of Hairy Gwow containing water-soluble-methanol-insoluble components.

A crude methanolic extract of White Gwow was shown to have a potency of 2.97×10^{-4} relative to oestradiol valerate. The administration of an oestrogen-rich extract of White Gwow over a period of 3 weeks caused a significant increase in the weight of mammary glands of male and ovariectomized female mice. The extent of the mammary gland duct system in whole mount preparations of treated mice, both males and ovariectomized females, was greater than that of the blank-injected animals. All glands observed, of both control and treated animals, consisted of a branching duct system, the terminal portions of which in many instances bore club-shaped end buds. No alveoli developed.

An assay based on vaginal cornification reaction in response to administered oestrogen was investigated but the method was found unsatisfactory. The possibility of using the vaginal opening response in immature female mice to subcutaneously topically injected oestrogen

in the vulvar region as a basis of an oestrogen assay was investigated.
The potential usefulness of this response was demonstrated.

Problems of oestrogen detection and measurement, the biological bases for reputed actions of Gwow medicinal plants, and the botanical significance of oestrogenic substances in plants are discussed.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หัวข้อวิทยานิพนธ์ พัฒนาการของ Screening Tests สำหรับ Oestrogenic activity ของสารที่สกัดมาจากพืชบางอย่างในภาคเหนือของประเทศไทย และการศึกษาอิทธิพลของสารนั้นต่อการเจริญของคอมปานีในหนู

วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาวิชาชีววิทยา) มหาวิทยาลัย

เชียงใหม่ 2522

ชื่อผู้ทำ พันสนีย์ สวัสดิพงษ์

บทคัดย่อ

วิธีที่รวดเร็วสำหรับทดสอบหา oestrogenic activity ของสารที่สกัดจากพืชได้ถูกคิดขึ้นโดยอาศัยการ เพิ่มน้ำหนักของมดลูกของหนูที่ยัง เจริญเติบโตไม่เต็มที่ วิธีการทดสอบรวมถึงการให้หนู 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ทำให้สมมูลในแต่ละกลุ่มโดยให้หนูที่มาจากกรอดเดียวกัน ฉีดโคโคอีวหนึ่งถ้วย blank solution 0.02 มิลลิลิตร, selected minimum effective dose ที่เลือกไว้แล้วของ standard oestrogen หรือสารที่สกัดจากพืชที่เหมาะสม 10 มิลลิกรัม ที่เวลา 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง และ sacrifice หนูที่ 60 ชั่วโมง หากน้ำหนักมดลูกของหนูแต่ละตัว วิธีนี้คาดว่าน่าจะใช้ตรวจสอบ oestrogenicity ของสกัดที่มี activity ได้ต่ำถึง 10^{-6} เท่าของ oestradiol valerate

ได้ทดสอบพืช 5 ชนิดคือ หัวของถั่วแดง, หัวของถั่วขาว (Pueraria mirifica), หัวของถั่วขน, หัวของแห้วหมู (Cyperus rotundus) และใบของหางนกยูงไทย (Caesalpinia pulcherrima) ทั้งหัวถั่วแดงและหัวแห้วหมูไม่แสดง oestrogenic activity ในสกัดที่มีส่วนประกอบที่ละลายได้ใน methanol ไม่ละลายในน้ำ, ละลายได้ในน้ำไม่ละลายใน methanol หรือละลายได้ทั้งในน้ำและใน methanol และใบหางนกยูงไทยไม่แสดง oestrogenic activity ใน crude methanolic extract ที่ทดสอบ อย่างไรก็ตาม หัวถั่วขาวแสดง oestrogenic

activity ในสกัดที่มีส่วนประกอบที่ละลายได้ใน methanol แต่ไม่แสดงปฏิกิริยาในสกัดที่มีส่วนประกอบที่ละลายได้ในน้ำไม่ละลายใน methanol หัวกวาวขาวแสดง oestrogenic activity ในสกัดที่มีส่วนประกอบที่ละลายได้ใน methanol ไม่ละลายในน้ำและในสกัดที่มีส่วนประกอบที่ละลายได้ทั้งในน้ำและใน methanol ผลการทดลองยังไม่ชัดเจนว่ามี oestrogenic activity ในสกัดของกวาวขาวอันหนึ่งที่มีส่วนประกอบที่ละลายได้ในน้ำไม่ละลายใน methanol ด้วย

Crude methanolic extract ของกวาวขาวแสดงให้เห็นว่ามี potency 2.97×10^{-4} เท่าของ oestradiol valerate การให้ oestrogen-rich extract ของกวาวขาวนาน 3 สัปดาห์ ทำให้น้ำหนักของคอมม่อนของหนูตัวผู้และหนูตัวเมียที่ตัดรังไข่ออกแล้วเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณของระบบท่อของคอมม่อนใน whole mount preparations ของหนูที่ให้ออกกวาวขาวมากกว่าปริมาณของระบบท่อของคอมม่อนในหนูที่ฉีดด้วย blank solution คอมม่อนทั้งหมดที่ศึกษาของหนูควบคุมและหนูทดลองประกอบด้วยระบบท่อที่แตก เป็นกิ่งก้านสาขา ส่วนปลายของท่อในหลายที่ตัวอย่าง เป็น club-shaped end buds ไม่มี alveoli เกิดขึ้น

โคติเคอวิธ assay วิธีหนึ่งที่สามารถใช้ปฏิกิริยา vaginal cornification คอมม่อนของหนู oestrogen ที่ให้ด้วยแคปซูลวิธีนี้ให้ผลไม่น่าพอใจ และโคติเคอวิธอาจจะเป็นไปได้อีกที่จะใช้การ เปิดของ vagina ที่คอมม่อนของหนู oestrogen ที่ฉีดเข้าใต้ผิวหนังบริเวณ vulva ในหนูที่ยังเจริญเติบโตเต็มที่ เป็นหลักเกณฑ์ในการ assay oestrogen พบว่าการคอมม่อนแบบนั้นสามารถจะใช้ เป็นประโยชน์ได้

นอกจากนี้โคติเคอวิธถึง เรื่องปัญหาในการตรวจสอบ oestrogen และการวัดหลักฐานสนับสนุนทางชีววิทยาสำหรับปฏิกิริยาที่เสาคือของกวาวขาวที่เป็นพืชสมุนไพร และ ความสำคัญทางพฤกษศาสตร์ของ oestrogenic substances ในพืชด้วย.