

Thesis Title Anti-inflammatory and Toxic Activities of Chloroform Extract and Cycloheptapeptide from *Mallotus spodocarpus* Airy Shaw

Author Miss Sophaphan Intahphuak

Degree Philosophy of Science (Pharmacology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Ampai Panthong	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Duangta Kanjanapothi	Member
Asst. Prof. Dr. Tawat Taesotikul	Member
Assoc. Prof. Dr. Nirush Lertprasertsuke	Member

ABSTRACT

Mallotus Spodocarpus Airy Shaw is a plant in the Euphorbiaceae family which is still no report about its pharmacological or toxicological activities. The present study aimed to investigate the anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and toxicity effects of *M. spodocarpus*. The preliminary investigation of anti-inflammatory and analgesic activities of the chloroform extract from the root of *M. spodocarpus* was performed. The chloroform extract showed anti-inflammatory activity in both acute and chronic inflammatory models as well as analgesic effect. A pure compound, a cycloheptapeptide was isolated from the chloroform extract and was proved whether it is responsible for the anti-inflammatory and analgesic activities of the extract. Antipyretic effect of this compound as well as acute and subacute toxicity were also studied. It was found that the cycloheptapeptide possessed moderate anti-inflammatory

effect on carrageenin- but showed lower effect on arachidonic acid-induced paw edema of which major mediators are prostaglandins (PGs) and leukotrienes, respectively. Thus the anti-inflammatory activity of cycloheptapeptide may relate to the inhibitory effect on the cyclooxygenase pathway and on the lipoxygenase pathway. The cycloheptapeptide significantly reduced the exudate volume, the leukocyte number and the PGE₂ activity in the pleural exudates. The mechanism of action of the cycloheptapeptide can be postulated to be due to the inhibitory effect on the synthesis and/or release of inflammatory mediators especially PGE₂. The compound may also affect the inflammatory cell function. In addition, the cycloheptapeptide showed inhibitory effect on the chronic inflammation by reducing the granuloma weight and the serum alkaline phosphatase activity. The results obtained suggest the inhibitory effect of the cycloheptapeptide on the fibroblast proliferation and the stabilization of the lysosomal membrane. The body weight gain and thymus dry weight were also reduced by the cycloheptapeptide, which may be due to the diarrhea and influencing effect on the lymphoid tissue, respectively. The cycloheptapeptide also showed pronounced analgesic effect on formalin-induced hyperalgesia and antipyretic effect in yeast-induced hyperthermia. The analgesic and antipyretic effect of the cycloheptapeptide may be due to the inhibition of synthesis and/or release of chemical mediators that cause pain or fever, especially PGE₂. In acute toxicity study, diarrhea and death were observed in rats receiving high doses of the cycloheptapeptide. The LD₅₀ was found to be 1.0 mg/kg in male rats and 0.9 mg/kg in female rats. In subacute toxicity study of cycloheptapeptide at anti-inflammatory doses, only diarrhea was observed in some rats during the experimental period. No other signs or symptoms were observed. The body weight gain and some organ weights of treated rats were affected. However, the histological examination of the internal organs was found to be normal. Some blood hematology and biochemical values of the satellite groups i.e. platelet and liver enzyme values also differed from those of the control rats. Thus the delay effect of the cycloheptapeptide on liver function is suggested.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ด้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดคลอโรฟอร์มและ
ไซโคลเฮกซะเปปไทด์จากต้นตะขี้หมูวัง

ชื่อผู้เขียน นางสาว โสภภาพรรณ อินตะเฝือก

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. อำไพ ปั่นทอง	ประธานกรรมการ
รศ. ดร. ดวงตา กาญจนโพธิ์	กรรมการ
ผศ. ดร. ธวัช เต๋โสตติกุล	กรรมการ
รศ. ดร. นิรัชร์ เติศประเสริฐสุข	กรรมการ

บทคัดย่อ

ต้นตะขี้หมูวัง (*Mallotus Spodocarpus* Airy Shaw) เป็นพืชในตระกูลน้ำมันราชสีห์ ซึ่ง
ยังไม่มีกรารายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยา ในการศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อ
ตรวจสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ระงับปวด ลดไข้และศึกษาความเป็นพิษของต้นตะขี้หมูวัง การ
ตรวจสอบเบื้องต้นถึงฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ระงับปวดของสารสกัดคลอโรฟอร์มพบว่าสาร
สกัดคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ด้านการอักเสบทั้งในรูปแบบการทดลองการอักเสบแบบเฉียบพลันและ
เรื้อรัง พร้อมทั้งแสดงฤทธิ์ระงับปวดด้วย นำสารบริสุทธิ์ไซโคลเฮกซะเปปไทด์ซึ่งแยกได้จากสาร
สกัดคลอโรฟอร์มของต้นตะขี้หมูวังมาทำการตรวจสอบว่าเป็นสารออกฤทธิ์ด้านการอักเสบและ
ระงับปวดในสารสกัดคลอโรฟอร์มหรือไม่ และยังศึกษาฤทธิ์ลดไข้และความเป็นพิษของสารนี้ด้วย
พบว่าไซโคลเฮกซะเปปไทด์มีฤทธิ์ลดบวมได้ปานกลางในการทดลองใช้คาราจีเนนเหนี่ยวนำให้เกิด
การบวมของอุ้งเท้าหนูขาว ซึ่งสารสื่อกลางที่สำคัญคือพรอสตาแกรนดิน แต่มีฤทธิ์ลดบวมได้

เล็กน้อยในการทดลองใช้กรดอะราซิโคนิกเหนียวทำให้เกิดการบวมของอู้ง่าหนูขาว ซึ่งสารสื่อกลางสำคัญคือลิพโคทรัยอิน ฉะนั้นฤทธิ์ด้านการอักเสบของไซโคลเฮปตะเปปไทด์อาจจะสัมพันธ์กับการยับยั้งผ่านทางไซโคลออกซิจิเนสและไลโปอกซิจิเนส ไซโคลเฮปตะเปปไทด์ยังมีผลลดปริมาตรของเอกซุคต จำนวนเม็ดเลือดขาว และระดับของพรอสตาแกรนดินในเอกซุคตจากช่องอกหนูขาวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คาดว่ากลไกการออกฤทธิ์ของไซโคลเฮปตะเปปไทด์เกิดจากการยับยั้งการสังเคราะห์และหรือการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบโดยเฉพาะพรอสตาแกรนดินอี-2 และอาจมีผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ไซโคลเฮปตะเปปไทด์ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบแบบเรื้อรัง โดยการมีผลลดน้ำหนักแกรนูโลมา และระดับของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม ผลที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดจากการที่ไซโคลเฮปตะเปปไทด์มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์และช่วยคงสภาพของผนังไลโซโซม ไซโคลเฮปตะเปปไทด์มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวและน้ำหนักแห้งของโทมัสซึ่งอาจเกิดจากอาการท้องเสียขณะทำการทดลองและผลกระทบต่อเนื้อเยื่อลิมโฟลย์ ไซโคลเฮปตะเปปไทด์แสดงฤทธิ์ระงับปวดในการทดลองใช้ฟอร์มาลินเหนียวทำให้เกิดความเจ็บปวด และแสดงฤทธิ์ลดไข้จากการทดลองใช้ยีสต์เหนียวทำให้เกิดไข้ ฤทธิ์ระงับปวดและลดไข้ของไซโคลเฮปตะเปปไทด์อาจเกิดจากการมีผลยับยั้งการสังเคราะห์และหรือการหลั่งสารสื่อกลางที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดและไข้โดยเฉพาะพรอสตาแกรนดินอี-2 ในการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันพบว่าหนูขาวที่ได้รับสารไซโคลเฮปตะเปปไทด์ในขนาดสูงเกิดอาการท้องเสียและตาย โดยขนาดที่ก่อให้เกิดการตาย 50 เปอร์เซ็นต์คือ 1.0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมในหนูเพศผู้ และ 0.9 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมในหนูเพศเมีย การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันของไซโคลเฮปตะเปปไทด์ในขนาดที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบพบว่า มีหนูเพียงบางตัวที่เกิดอาการท้องเสียในช่วงระยะเวลาการศึกษา และไม่พบอาการและอาการแสดงอื่น พบว่าไซโคลเฮปตะเปปไทด์มีผลกระทบต่อน้ำหนักตัวและน้ำหนักอวัยวะบางอย่างของหนูขาว อย่างไรก็ตามจากการตรวจสอบทางพยาธิวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ไม่พบความผิดปกติใดๆ ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีของเลือดบางค่าในหนูขาวที่ได้รับสารไซโคลเฮปตะเปปไทด์และในกลุ่มแซเทิลไลท์ เช่น เกร็ดเลือดและค่าเอนไซม์ของตับแตกต่างจากหนูในกลุ่มควบคุม ฉะนั้นไซโคลเฮปตะเปปไทด์อาจมีผลระยะยาวต่อการทำงานของตับ