

ผลของน้ำสมุนไพรบางชนิดต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของยาสตรีแมนโบราณหลังทำ
ปฏิกิริยากับไนโตรทโดยใช้การทดสอบเอมส์



นางสาวอัจฉราพร ลิ้มประเสริฐกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเกษตรศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ภาควิชาอาหารเคมี

คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-0878-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF SOME HERBAL DRINKS ON THE MUTAGENICITY OF NITRITE TREATED
MENSTRUAL REGULATORY AND HAEMATINIC TRADITIONAL PREPARATIONS, USING
AMES TEST

Miss Atcharaporn Limprasertkul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Food Chemistry

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-0878-5

อัจฉราพร ลิ้มปรีเสริฐกุล : ผลของน้ำสมุนไพรบางชนิดต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของยา
สตรีแผนโบราณหลังทำปฏิกิริยากับไนโตรทโดยใช้การทดสอบแอมส์. (EFFECT OF
SOME HERBAL DRINKS ON THE MUTAGENICITY OF NITRITE TREATED
MENSTRUAL REGULATORY AND HAEMATINIC TRADITIONAL PREPARATIONS,
USING AMES TEST) อ.ที่ปรึกษา : อ.ดร.ลินนา ทองยงค์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.แก้ว
กัสดาลอำไพ, 86 หน้า. ISBN 974-17-0878-5.

การทดลองนำยาสตรีแผนโบราณ 2 ชนิดมาทำปฏิกิริยากับไนโตรทในสถานะที่เป็นกรด
(ความเป็นกรดเป็นด่าง 3-3.5) พบว่าแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium*
สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในวิธีแอมส์ โดยไม่ต้องมีระบบกระตุ้นการก่อกลายพันธุ์ จึงได้นำน้ำ
สมุนไพร 6 ชนิด ได้แก่ กระเจี๊ยบ แก้วฮวย คำฝอย ไบหม่อน มะตูม และบัวบก มาทดสอบด้านฤทธิ์
ก่อกลายพันธุ์ของยาสตรีแผนโบราณทั้ง 2 ชนิดหลังทำปฏิกิริยากับไนโตรท

จากการศึกษาผลของน้ำสมุนไพร 6 ชนิด ต่อยาสตรีแผนโบราณ 2 ชนิดหลังทำปฏิกิริยา
กับไนโตรทต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 พบว่าน้ำสมุนไพรทั้ง 6
ชนิดไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของยาสตรีแผนโบราณหลังทำปฏิกิริยากับไนโตรทได้ นอก
จากนี้ยังพบว่าน้ำสมุนไพร 4 ชนิดที่เสริมฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของยานี้หลังทำปฏิกิริยากับไนโตรท
ได้แก่ แก้วฮวย คำฝอย มะตูม และ บัวบก โดยน้ำสมุนไพรจะมีผลต่อยาชนิดที่ 2 มากกว่ายาชนิดที่
1 และมีผลเพิ่มฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium* TA98 มากกว่า TA100 ซึ่ง
สมมติฐานที่เป็นไปได้ อาจเกิดเนื่องจากการมีสารที่มีคุณสมบัติเป็น reductant ในน้ำสมุนไพร ยิ่ง
ไปกว่านั้นควรศึกษาผลของน้ำสมุนไพรต่อเอนไซม์ nitroreductase และ O-acetyltransferase ซึ่ง
เชื่อว่าจะมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* ต่อไป

ดังนั้นแนวทางป้องกันฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของยาสตรีแผนโบราณหลังทำปฏิกิริยากับไน-
โตรท คือ หลีกเลี่ยงการรับประทานยาสตรีแผนโบราณพร้อมอาหารที่มีไนโตรท

ภาควิชา อาหารเคมี
สาขาวิชา อาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์
ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนิสิต อัจฉราพร ลิ้มปรีเสริฐกุล
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ลินนา ทองยงค์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

4376649333 : MAJOR FOOD CHEMISTRY

KEY WORD : HERBAL DRINKS/ MUTAGENICITY/ MENSTRUAL REGULATORY AND HAEMATINIC TRADITIONAL PREPARATIONS/NITRITE/AMES TEST

ATCHARAPORN LIMPRASERTKUL : EFFECT OF SOME HERBAL DRINKS ON THE MUTAGENICITY OF NITRITE TREATED MENSTRUAL REGULATORY AND HAEMATINIC TRADITIONAL PREPARATIONS, USING AMES TEST. THESIS ADVISOR : LINNA TONGYONK, D.Sc. THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. KAEW KANGSADALAMPAI, Ph.D. 86 pp. ISBN 974-17-0878-5.

Two menstrual regulatory and haematinic traditional preparations, interacted with nitrite in an acidic circumstance (pH 3-3.5) at 37°C for 4 h, showed their mutagenicity towards *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 of Ames test without activating system. Attempt to show that herbal drinks prepared from six herbs, namely *Hibiscus sabdariffa* Linn., *Chrysanthemum morifolium* Hemsl., *Carthamus tinctorius* Linn., *Morus alba* Linn., *Aegle marmelos* (Linn.) Corr., and *Centella asiatica* (Linn.) Urban could inhibit the mutagenicity of the nitrite treated drug was performed.

It was found that the herbal drinks did not inhibit the mutagenicity of nitrite treated drugs. Moreover, four of six herbal drinks prepared from *Chrysanthemum morifolium* Hemsl., *Carthamus tinctorius* Linn., *Aegle marmelos* (Linn.) Corr, and *Centella asiatica* (Linn.) Urban enhanced the mutagenicity of the treated drugs. Higher mutagenicity enhancing effect of the herbal drinks were found on nitrite treated drug number 2 than on drug number 1 and it was more prominent on *Salmonella typhimurium* TA98 than on TA100. A possible hypothesis to explain why the number of revertants of both strains induced by nitrite treated drugs was increased may be due to some reductants in the herbal drinks. Furthermore, the enzyme inducing of herbs, namely, nitroreductase and O-acetyltransferase in *Salmonella typhimurium* of Ames test that are believed to play a role in mutagenesis of positive standard should be investigated.

The results presented here suggested that daily consumption of herbal drinks could not reduce the risk of the stomach cancer from nitrite treated these drugs. Thus, avoiding consumption of nitrite containing foods should be better way to prevent gastric cancer.

Department Food Chemistry

Field of study Food Chemistry and Medical Nutrition

Academic year 2002

Student's signature *Atcharaporn Limprasertkul*

Advisor's signature *Linna Tongyongk*

Co-advisor's signature *Kaew Kangsadalampai*

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude and deep appreciation to Dr. Linna Tongyonk, my advisor for her guidance, invaluable advice, helpfulness, kindness, understanding and encouragement throughout this study.

I am very grateful to Associate Professor Dr. Kaew Kangsadalampai, my co-advisor for his guidance, kindness, helpfulness, comment and encouragement.

I would like to thank Associate Professor Dr. Oranong Kangsadalampai, for her advice and comments. My appreciation is expressed to the other members of this thesis committee, Associate Professor Thitirat Panmaung and Associate Professor Dr. Rapepol Bavovada, for their valuable helpful suggestions.

I would like to thank all staff members of the Department of Food Chemistry for their assistance and encouragement.

I would like to thank the Graduate School of Chulalongkorn University for providing the research funding for this study.

I would like to thank my friends for their kindness and friendship.

Finally, I wish to express my deep gratitude to my family for their love, warmth and encouragement. I will never success without them.

CONTENTS

	page
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST IF OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xi
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II LITERATURE REVIEW.....	4
III MATERIALS AND METHODS.....	19
IV RESULTS.....	32
V DISCUSSION.....	54
VI CONCLUSION.....	60
REFERENCES.....	62
APPENDIX.....	74
VITA.....	86

LIST OF TABLES

Table	Page
1	The composition of the menstrual regulatory and haematinic traditional preparations in this study.....24
2	Mutagenicity of the concentrates of the menstrual regulatory and haematinic traditional preparations on <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 without metabolic activation.....33
3	Mutagenicity of the concentrates of the menstrual regulatory and haematinic traditional preparations on <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 without metabolic activation.....34
4	Mutagenicity of the concentrates of herbal drinks on <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 without metabolic activation.....35
5	Mutagenicity of the concentrates of herbal drinks on <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 without metabolic activation.....37
6	Effect of herbal drinks on the mutagenicity of nitrite treated menstrual regulatory and haematinic traditional preparation (drug 1) on <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 without metabolic activation.....42

Table	Page
7	Effect of herbal drinks on the mutagenicity of nitrite treated menstrual regulatory and haematinic traditional preparation (drug 1) on <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 without metabolic activation.....44
8	Effect of herbal drinks on the mutagenicity of nitrite treated menstrual regulatory and haematinic traditional preparation (drug 2) on <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 without metabolic activation.....46
9	Effect of herbal drinks on the mutagenicity of nitrite treated menstrual regulatory and haematinic traditional preparation (drug 2) on <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 without metabolic activation.....48
10	Percent modification of herbal drinks on the mutagenicity of nitrite treated menstrual regulatory and haematinic traditional preparation (drug 1) on <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 and TA100 without metabolic activation.....50
11	Percent modification of herbal drinks on the mutagenicity of nitrite treated menstrual regulatory and haematinic traditional preparation (drug 2) on <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 and TA100 without metabolic activation.....52

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Experimental design of mutagenicity assay.....	22
2	Direct mutagenicity evaluation of menstrual regulatory and haematinic traditional preparations using the Ames test (pre-incubation modification).....	27
3	Steps to determine the mutagenicity of nitrite treated menstrual regulatory and haematinic Traditional preparations using the Ames test (pre-incubation modification).....	29

LIST OF ABBREVIATIONS

°C	=	degree celcius
<i>et al.</i>	=	et alli (and others)
i.e.	=	id est (this is)
e.g.	=	exempli gratia (for example)
g	=	gram
h	=	hour
µg	=	microgram
µl	=	microlitre
mg	=	milligram
ml	=	millilitre
mM	=	millimolar
min	=	minute
M	=	Molar
MW	=	Molecular Weight
ppm	=	part per million
W/V	=	Weight/Volume
His ⁺	=	Histidine prototrophy
N	=	Normality