

ผลของกวาวเครือดำ (*Mucuna collettii*) ต่อระดับฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรท
เพศเมียและเพศผู้โตเต็มวัย



นางสาว ขวัญตา แทนสา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสรีรวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4040-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF BLACK KWAO KRUA (*Mucuna collettii*) ON SERUM
SEX HORMONE LEVELS AND REPRODUCTIVE ORGANS IN
ADULT FEMALE AND MALE RATS



Miss Kwanta Thansa

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Physiology (Inter-Department)

Graduate School

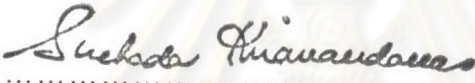
Chulalongkorn University

Academic year 2003

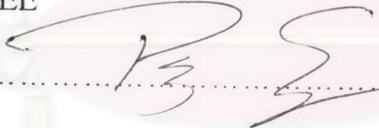
ISBN 974-17-4040-9


Thesis Title Effects of Black Kwao Krua (*Mucuna collettii*) on
Serum Sex Hormone Levels and Reproductive Organs in
Adult Female and Male Rats.
By Miss Kwanta Thansa
Field of Study Physiology
Thesis Advisor Associate Professor Suchinda Malaivijitnond, Ph.D.
Thesis Co-advisor Associate Professor Kingkaew Wattanasirmit, Ph.D.


Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

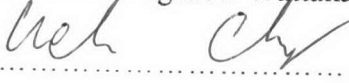

..... Dean of Graduate School
(Professor Suchada Kiranandana, Ph.D.)


THESIS COMMITTEE


..... Chairman
(Associate Professor Prasong Siriviriyakul, M.D.)


..... Thesis Advisor
(Associate Professor Suchinda Malaivijitnond, Ph.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Associate Professor Kingkaew Wattanasirmit, Ph.D.)


..... Member
(Associate Professor Wichai Cherdshewasart, Ph.D.)


..... Member
(Associate Professor Punya Temcharoen, D.V.M.)

ขวัญตา แทนสา : ผลของกวาวเครือดำ (*Mucuna collettii*) ต่อระดับฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศเมียและเพศผู้โตเต็มวัย (Effect of Black Kwao Krua (*Mucuna collettii*) on serum sex hormone levels and reproductive organs in adult female and male rats) อ. ที่ปรึกษา: รศ.ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ 138 หน้า. ISBN 974-17-4040-9.

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อระดับฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศเมียโตเต็มวัยปกติ เพศผู้โตเต็มวัยปกติ เพศเมียที่ตัดรังไข่และเพศผู้ที่ตัดรังไข่ ในการทดลองแบ่งหนูออกเป็น 5 กลุ่ม โดย 3 กลุ่มแรกให้กวาวเครือดำทางปากในขนาด 1, 10 และ 100 มก/กก/วัน และ 2 กลุ่มหลังซึ่งจัดเป็นกลุ่มควบคุมทางลบและบวก ให้น้ำกลั่นทางปากขนาด 0.7 มล/วัน และให้สารละลายเทสโทสเทอโรนโพรปิโอเนต (TP) ทางใต้ผิวหนังขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กก/วัน นาน 30 วัน ในหนูเพศเมียพบว่า การให้สารละลายกวาวเครือดำขนาด 100 มก/กก/วัน ในหนูปกติสามารถไปเพิ่มระดับ E_2 และเมื่อให้กวาวเครือดำในขนาด 10 มก/กก/วัน ในหนูที่ตัดรังไข่สามารถลดระดับ LH ได้ นอกจากนี้ยังพบว่ากวาวเครือดำทุกขนาดไม่มีผลใด ๆ ต่อน้ำหนักมดลูก รังไข่ และ vaginal cytology รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงในระดับเนื้อเยื่อ ในหนูแรทเพศเมียปกติและที่ตัดรังไข่ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าหนูแรทเพศเมียปกติที่ได้รับกวาวเครือดำขนาด 100 มก/กก/วัน รอบวงอีสตรัสมีแนวโน้มยาวขึ้น (5.40 ± 0.11 วัน, $p = 0.058$) ในหนูเพศผู้พบว่ากวาวเครือดำทั้ง 3 ขนาดไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ต่อระดับฮอร์โมน T, LH, และ FSH, และน้ำหนักและลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ ทั้งในหนูปกติและที่ตัดอวัยวะ ซึ่งลักษณะดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อให้ TP จากการทดลองนี้สรุปได้ว่าเมื่อให้กวาวเครือดำในขนาด 10-100 มก/กก/วัน นาน 30 วัน สามารถแสดงผลต่อระดับฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศเมียได้แต่ยังไม่ชัดเจน และไม่แสดงผลในหนูแรทเพศผู้เลย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากวาวเครือดำที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีขนาดต่ำเกินไปหรือระยะเวลาที่ให้สารสั้นเกินไป ดังนั้นจึงน่าที่จะทำการทดลองต่อไปโดยเพิ่มปัจจัยดังกล่าว

ภาควิชา..... สหสาขาวิชาสัตวศาสตร์.....
 สาขาวิชา..... สหสาขาวิชาสัตวศาสตร์.....
 ปีการศึกษา..... 2546.....

ลายมือชื่อนิสิต..... พ.ศ. ขวัญตา แทนสา.....
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4389115720 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEY WORD: *Mucuna collettii* / LH/ FSH/ E₂/ T/OVARY/TESTIS/RAT

KWANTA THANSA: EFFECT OF BLACK KWAO KRUA (*Mucuna collettii*) ON SERUM SEX HORMONE LEVELS AND REPRODUCTIVE ORGANS IN ADULT FEMALE AND MALE RATS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF.: SUCHINDA MALAIVIJITNOND, PH.D, THESIS COADVISOR: KINGKAEW WATTANASIRMKIT, PH.D, 138 pp. ISBN 974-17-4040-9.

This study aimed to investigate the effect of power suspension of *Mucuna collettii* (Mc) on sex hormone levels and reproductive organs in adult cyclic female, adult normal male, bilateral ovariectomized (OVX) and bilateral orchidectomized (ODX) rats. Three groups of rats were orally treated with Mc at dosages of 1, 10 or 100 mg/kg/day, and other two groups were orally treated with 0.7 mg/day of distilled water (negative control) or subcutaneously injected with 600 ug/100 g/day of testosterone propionate (TP, positive control) for 30 days, respectively. In female rats, 100 mg/kg/day of Mc increased E₂ levels in cyclic females and 10 mg/kg/day of Mc decreased LH levels in OVX females. No changes of weights and histology of reproductive organs and vaginal cytology after Mc treatment in both cyclic and OVX females were observed. However, the estrous cycle tended to be prolonged (5.40 ± 0.11 days, $p = 0.058$) in 100 mg/kg/day of Mc-treated cyclic rats. In male rats, all three dosages of Mc did not affect on levels of T, LH and FSH, and the weights and histology of reproductive organs in both normal and ODX males. But the prominent changes in those parameters were found in both sexes of rats, including normal and castrated rats, after TP treatment. From this study, it can conclude that treatment of Mc at dosages of 10-100 mg/kg/day for 30 days seems to change the sex hormone levels and reproductive organs in female, but not male, rats. Possibly, the dosage for treatment is too low or the duration of treatment is too short. Changes on those parameters for the further research on Mc are therefore become an interesting point.

Inter-Department of Physiology

Field of study Physiology

Academic year 2003

Student's signature *Kwanta Thansa*

Advisor's signature *S. Malaivijitnond*

Co-advisor's signature *K. Wattanasirmit*

ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis was carried out successfully through many valuable advices, helpful guidance, suggestions and intensive review from my advisor, Associate Professor Dr.Suchinda Malaivijitnond, and my co-advisor, Associate Professor Dr.Kingkaew Wattanasirmit, whom I would like to express my deep gratitude. I also would like to express my sincere to the chairman, Associate Professor Prasong Siriviriyakul and the thesis committee, Associate Professor Dr. Wichai Cherdshewasart and Associate Professor Panya Temcharoen.

I would like to express my sincere thanks to The Ministry of University Affairs, Graduate School and Interdepartment of Physiology of Chulalongkorn University for their financial supports. The thanks are also expressed to Primate Research Unit and Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University for provision facilities and to Professor Dr.Kazuyoshi Taya, Laboratory of Veterinary Science, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Japan and Dr.Neiswender, USA for providing of chemical reagents for measurements of serum luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH). The sincere thanks are also expressed to Associate Professor Dr.Prakong Tangpraputgul and Professor Dr.Kohen Fortune, Weizmann Institute of Israel for providing the estradiol antibody.

I wish to express my sincere thanks to all staffs and friends at Interdepartment of Physiology, Faculty of Medicine and Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University who are not mentioned here for their helps. My special thanks are expressed to Mrs.Hataitip Trisomboon, Miss Rattana Panriansaen, Mr.Nontakorn Urasopon, Miss A-ngun Ketsuwan and Miss Sukanya Jaroenporn for their helps in this study.

Last, I would like to give my whole hearted love and gratitude to my parents and sisters for their endless supports given to me throughout my graduate study and I am also indebted to all experimental rats for their sacrifice which bring me to succeed my study.

LIST OF CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
LIST OF CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xiii
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II THEORY AND LITERATURE REVIEW.....	6
-BOTANICAL BACKGROUND AND CHEMICAL CONSTITUENTS OF <i>Mucuna collettii</i>	
-THE BENEFITS OF <i>Mucuna collettii</i> ACCORDING TO THAI FOLKLORE REMEDY	
-REGULATION OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-GONADAL AXIS	
-EFFECT OF EXOGENOUS TESTOSTERONE ADMINISTRATION ON PITUITARY-	
GONADAL AXIS	
III MATERIALS AND METHODS.....	28
IV RESULTS.....	46
V DISCUSSION AND CONCLUSION.....	106
REFERENCES.....	116
APPENDICES.....	121
BIOGRAPHY.....	138

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
1	Changes of the weight and absolute weight of ovaries and uteri at the end of the treatment and at the end of post-treatment periods of cyclic female rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>M. collettii</i>51
2	Changes of vaginal cytology in cyclic female rats treated with distilled water.....61
3	Changes of vaginal cytology in cyclic female rats treated with testosterone propionate.....61
4	Changes of vaginal cytology in cyclic female rats treated with 1 mg/kg/day of <i>M. collettii</i>62
5	Changes of vaginal cytology in cyclic female rats treated with 10 mg/kg/day of <i>M. collettii</i>63
6	Changes of vaginal cytology in cyclic female rats treated with 100 mg/kg/day of <i>M. collettii</i>64
7	Changes of estrous cycle length in each study period in cyclic female rats treated with distilled water, <i>Mucuna collettii</i> and testosterone propionate.....65
8	Changes of the weight and absolute weight of uteri at the end of treatment and at the end day of post-treatment periods in ovariectomized female rats treated with distilled water testosterone propionate and <i>M. collettii</i>70

LIST OF TABLES (continued)

TABLE	PAGE
9	Changes of vaginal cytology in ovariectomized female rats treated with distilled water.....75
10	Changes of vaginal cytology in ovariectomized female rats treated with testosterone propionate.....75
11	Changes of vaginal cytology in ovariectomized female rats treated with 1 mg/kgBW of <i>M. collettii</i>75
12	Changes of vaginal cytology in ovariectomized female rats treated with 10 mg/kgBW of <i>M. collettii</i>75
13	Changes of vaginal cytology in ovariectomized female rats treated with 100 mg/kgBW of <i>M. collettii</i>75
14	Changes of the weight of testes, epididymis and seminal vesicle at the end of treatment and at the end of post-treatment periods in normal male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>M. collettii</i>82
15	Changes of the absolute weight of testes, epididymis and seminal vesicle at the end of treatment and at the end of post-treatment periods in normal male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>M. collettii</i>99
16	The preparation of di-distilled water and <i>M. collettii</i> administration at the various body weights in the rats.....136
17	The preparation of testosterone propionate administration at the various body weights in the rats.....137

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
1	The botanical characteristics of <i>M. collettii</i>	7
2	The structures of three isolated active compounds from the stem of <i>Mucuna collettii</i> ; quercetin, kaempferol hopeaphenol.....	8
3	The brain of rat.....	11
4	The hypothalamic-hypophysial-portal system.....	12
5	General principles of feedback control in reproductive system.....	16
6	Types of cells in the different stages of estrous cycle by vaginal smear...26	
7	Changes of serum estradiol levels in cyclic female rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	48
8	Changes of serum LH levels in cyclic female rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	48
9	Changes of serum FSH levels in cyclic female rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	50
10	Ovarian tissue of cyclic female rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment (E,F) and TP at the end of post-treatment periods (G)	54
11	Uterine histology of cyclic female rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment period (E,F)	57
12	Changes of serum estradiol levels in ovariectomized female rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	66

LIST OF FIGURES (continued)

FIGURE		PAGE
13	Changes of serum LH levels in ovariectomized female rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	66
14	Changes of serum FSH levels in ovariectomized female rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	68
15	Uterine histology of ovariectomized female rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment (E) and TP at the end of post-treatment periods (F)	72
16	Changes of serum testosterone levels in normal male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	77
17	Changes of serum LH levels in normal male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	77
18	Changes of serum FSH levels in normal male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>	79
19	Testicular histology of normal male rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment (E) and TP at the end of post-treatment periods (F)	84
20	Tail region of epididymis of normal male rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment (E) and TP at the end of post-treatment periods (F).....	87

LIST OF FIGURES (continued)

FIGURE	PAGE
21	Seminal vesicle of normal male rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment (E) and TP at the end of post-treatment periods (F)90
22	Changes of serum testosterone levels in orchidectomized male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>94
23	Changes of serum LH levels in orchidectomized male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>94
24	Changes of serum FSH levels in orchidectomized male rats treated with distilled water, testosterone propionate and <i>Mucuna collettii</i>97
25	Tail region of epididymis of orchidectomized male rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment (E) and TP at the end of post-treatment periods (F).....101
26	Seminal vesicle histology of orchidectomized male rats treated with distilled water (A), Mc-1 (B), Mc-10 (C), Mc-100 (D) and TP at the end of treatment (E) and TP at the end of post-treatment periods (F).....104

LIST OF ABBREVIATIONS

BW	Body weight
°C	Degree Celsius
g	Gram
kg	Kilogram
M	Molar
mg	Milligram
ml	Millilitre
ng	Nanogram
pg	Picogram
µg	Microgram
µl	Microlitre
pH	The negative logarithm of the concentration of hydrogen ions
rpm	Revolution per minute

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย