

ผลเจียบพลันและระยะยาวของกาวเครือขาว *Pueraria mirifica*, Airy
Shaw & Suvantabandhu ต่อระบบสืบพันธุ์ ระดับแคลเซียมในซีรัมและ
ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องในลิงหางยาวเทศเมีย *Macaca fascicularis*

นางหทัยทิพย์ ไตรสมบูรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4081-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ACUTE AND LONG-TERM EFFECTS OF WHITE KWAO KRUA *Pueraria mirifica*, Airy Shaw & Suvantabandhu ON REPRODUCTIVE SYSTEM,
SERUM CALCIUM LEVEL AND RELATED HORMONES IN FEMALE
CYNOMOLGUS MONKEYS *Macaca fascicularis***



Mrs.Hataitip Trisomboon

**A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy in Biological Science**

**Faculty of Science
Chulalongkorn University**

Academic Year 2003

ISBN 974-17-4081-6

Thesis Title Acute and long-term effects of white kwao krua *Pueraria mirifica*, Airy Shaw & Suvantabandhu on reproductive system, serum calcium level and related hormones in female cynomolgus monkeys *Macaca fascicularis*

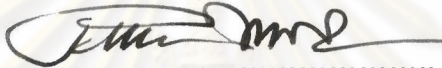
By Hataitip Trisomboon

Field of Study Biological Science


Thesis Advisor Associate Professor Suchinda Malaivijitnond, Ph.D.

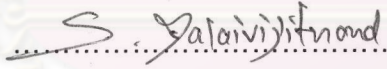
Thesis Co-advisor Professor Kazuyoshi Taya, Ph.D.


Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy


..... Dean of Faculty of Science
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

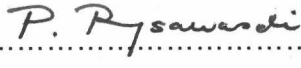
Thesis committee


..... Chairman
(Associate Professor KingKaew Wattanasirmit, Ph.D.)



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


..... Thesis Co-advisor
(Professor Kazuyoshi Taya, Ph. D.)


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


..... Member

(Associate Professor Piamsook Pongsawasdi, Ph. D.)


..... Member
(Associate Professor Yuzuru Hamada, Ph. D.)

หทัยทิพย์ ไตรสมบุรณ์: ผลเฉียบพลันและระยะยาวของกวางเครือขาว *Pueraria mirifica*, Airy Shaw & Sivantabandhu ต่อระบบสืบพันธุ์ ระดับแคลเซียมในซีรัมและฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องในลิงหางยาวเทศเมีย *Macaca fascicularis* (ACUTE AND LONG-TERM EFFECTS OF WHITE KWAO KRUA *Pueraria mirifica*, Airy Shaw & Sivantabandhu ON REPRODUCTIVE SYSTEM, SERUM CALCIUM LEVEL AND RELATED HORMONES IN FEMALE CYNOMOLGUS MONKEYS *Macaca fascicularis*) อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ. ดร.สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: Prof. Dr. Kazuyoshi Taya จำนวน 181 หน้า ISBN 974-17-4081-6

ฤทธิ์ของกวางเครือขาว *Pueraria mirifica* (PM) ต่อระดับโกนาโดโทรฟินส์ และฮอร์โมนเพศในซีรัมและในปัสสาวะของลิงเทศเมียที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์และวัยหมดประจำเดือนรวมทั้งระดับพาราไทรอยด์ฮอร์โมนและแคลเซียมในซีรัมลิงวัยหมดประจำเดือนได้ถูกทำการศึกษา ลิงหางยาว (*Macaca fascicularis*) ถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (n = 3) แต่ละกลุ่มได้รับกวางเครือขาวขนาด 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม (PM-10, PM-100 และ PM-1,000 ตามลำดับ) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการได้รับ PM-1,000 จำนวน 1 ครั้งสามารถยืดความยาวของรอบประจำเดือนแต่ไม่เปลี่ยนแปลงระดับโกนาโดโทรฟินส์ อีสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนในซีรัมและปัสสาวะของลิงวัยเจริญพันธุ์ การได้รับกวางเครือขาวทุกวันเป็นเวลา 3 รอบประจำเดือนหรือ 90 วันมีผลยืดความยาวของรอบประจำเดือนและหยุดประจำเดือนในลิงวัยเจริญพันธุ์ การให้กวางเครือขาวเป็นเวลานานแก่ลิงวัยเจริญพันธุ์และวัยหมดประจำเดือนก่ระดับโกนาโดโทรฟินส์ และฮอร์โมนเพศในระหว่างที่ได้รับกวางเครือขาวและผลต่อฮอร์โมนสามารถกลับสู่ภาวะปกติหลังจากที่หยุดการได้รับกวางเครือขาว ยกเว้นในกรณีของการให้ PM-1,000 ที่ซึ่งผลของกวางเครือขาวยังคงมีอยู่จนสิ้นสุดการทดลอง (60 วันหลังจากหยุดการให้) ผลของกวางเครือขาวต่อระดับพาราไทรอยด์ฮอร์โมนและแคลเซียมขึ้นกับปริมาณของกวางเครือขาวที่ให้แก่ลิงวัยหมดประจำเดือน การได้รับกวางเครือขาวทุกวันมีผลไปก่ระดับพาราไทรอยด์ฮอร์โมนและแคลเซียมในลิงวัยหมดประจำเดือน ระดับฟอลลิเคิลสติมูเลทิงฮอร์โมนและอีสตราไดออลในปัสสาวะลดลงในลิงวัยเจริญพันธุ์ที่ได้รับ PM-100 และ PM-1,000 และในลิงที่อยู่ในวัยหมดประจำเดือนที่ได้รับกวางเครือขาวทุกขนาด ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าแม้ฤทธิ์ของกวางเครือขาวลดลงหลังจากที่หยุดให้กวางเครือขาวในปริมาณต่ำ แต่การให้กวางเครือขาวไม่เพียงแต่มีผลต่ออวัยวะของระบบสืบพันธุ์และยังมีผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระดูก

สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์ชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา...2546.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *Kazuyoshi Taya*

4273835023 : Biological Science

KEY WORDS : *Pueraria mirifica*, *Macaca fascicularis*, phytoestrogens, FSH, LH, estradiol, progesterone, PTH, calcium, adult cyclic monkey, age menopausal monkey

HATAITIP TRISOMBOON: ACUTE AND LONG-TERM EFFECTS OF WHITE KWAO KRUA *Pueraria mirifica*, Airy Shaw & Suvantabandhu ON REPRODUCTIVE SYSTEM, SERUM CALCIUM LEVEL AND RELATED HORMONES IN FEMALE CYNOMOLGUS MONKEYS *Macaca fascicularis*. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SUCHINDA MALAIVIJINTOND, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: PROF. KAZUYOSHI TAYA, Ph.D., 181 pp. ISBN 974-17-4081-6

The estrogenic effect of white kwao krua, *Pueraria mirifica* (PM), on serum and urinary gonadotropin and sex steroid hormone levels in adult cyclic and aged menopausal cynomolgus monkeys, as well as on serum PTH and calcium levels in aged menopausal monkeys was investigated. The cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) were divided into 3 groups. Each group (n = 3) was fed with the 10, 100, and 1,000 mg of PM (PM-10, PM-100, and PM-1,000, respectively). The results showed that a single treatment of PM-1,000 prolonged the length of menstrual cycle, but did not change serum and urinary gonadotropins, estradiol, or progesterone levels. The long-term daily treatment of PM, for three menstrual cycles or 90 days, prolonged the length of menstrual cycle and stopped menstruation of adult cyclic monkeys. Long-term treatment of PM on adult cyclic and aged menopausal monkeys suppressed the serum levels of gonadotropins and sex steroid hormones during the treatment period, and the effect was recovered during the post-treatment period, except the case of PM-1,000 treatment, which the effect continued until the end of experiment (60 days after cessation of treatment). The effect of PM on levels of serum PTH and calcium levels depended on the dose in aged menopausal monkeys. The daily treatment of PM also suppressed the serum level of PTH and calcium in aged menopausal monkeys. Urinary FSH and estradiol levels were suppressed in adult cyclic monkeys by the treatment of PM-100 and PM-1,000 and in aged menopausal monkeys by all doses of PM. It is concluded that although the effect of PM can be recovered soon after the cessation of treatment in lower dose, the treatment by PM affected on not only reproductive organs but also bone-related organs.

Field of study ..Biological Science.... Student's signature..... 

Academic year.....2003.....Advisor's signature..... 

Co-advisor's signature..... 

Acknowledgments

I would like to express my deepest gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Suchinda Malaivijitnond and my co-advisor, Professor Dr. Kazuyoshi Taya for their suggestions concerning this research and their criticism of the written portions of this dissertation. I warmly thank the other members of my committee, Associate Professor Dr. Kingkaew Wattanasirmit, Associate Professor Dr. Wichai Cherdshewasart, Associate Professor Dr. Piamsook Pongsawasdi, Associate Professor Dr. Yuzuru Hamada for their valuable suggestions and discussions of this work.

I would like to express my sincere gratitude to Associate Professor Dr. Gen Watanabe from Laboratory of Veterinary Physiology, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology for his kindly suggestion and help during my stay in Japan.

I would like to sincere thanks Associate Professor Dr. Wichai Cherdshewasart from Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University for kindly provided the powder of the root of *Pueraria mirifica*.

Funding for this research was provided by the Thailand Research Fund (TRF) for the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (RGJ) and the Basic Research Grant for Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (BGJ).

My sincerest gratitude is extended to my husband, Pol.Capt.Supachai Trisomboon, and son, Supanut Trisomboon for their support and encouragement. I wish to express my thanks to all my friends for their kindly help, sympathy, and encouragement throughout the study.

Finally, I could not have finished this work without the cynomolgus monkeys located at the Primate Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Table of Contents

	Page
Thai Abstract	iv
English Abstract	v
Acknowledgments	vi
Table of Contents	vii
List of Tables	ix
List of Figures	x
Chapter I Introduction.....	1
Chapter II Literature Review.....	7
Chapter III Estrogenic Effects of <i>Pueraria mirifica</i> on the Menstrual Cycle and Hormone-Related Ovarian Functions in Cyclic Female Cynomolgus Monkeys.....	21
Chapter IV Ovulation-Block by <i>Pueraria mirifica</i> , an Indigenous Thai Herb: A Study of Its Endocrinological Effect in Adult Female Cynomolgus Monkeys.....	45
Chapter V Estrogenic Effect of <i>Pueraria mirifica</i> Phytoestrogens on the Decrease of Gonadotropin Levels in Aged Menopausal Monkeys.....	69

Table of Contents (cont.)

	Page
Chapter VI Acute and Long-Term Effects of <i>Pueraria mirifica</i> on Urinary Levels of Gonadotropin and Steroid Hormones in Female Cynomolgus Monkeys.....	93
Chapter VII Long-Term Treatment of <i>Pueraria mirifica</i> Phytoestrogens on Parathyroid Hormone and Calcium Levels in Aged Menopausal Cynomolgus Monkeys	129
Chapter VIII Conclusion	148
References.....	150
Appendices.....	171
Biography.....	181



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Tables

Table	Page
2.1 Phytoestrogens content in <i>P. mirifica</i>	8
3.1 Menstrual cycle length of monkeys treated with 10, 100, and 1,000 mg of <i>P. mirifica</i>	28
3.2 Mean concentrations of serum gonadotropins and ovarian hormones during the late follicular phase and the early luteal phase in normal cyclic monkeys	29
4.1 The menstrual cycle length of monkeys treated with 10, 100, and 1,000 mg/day of <i>P. mirifica</i> during the treatment and post-treatment periods	52



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Figures

Figure	Page
2.1 A comparison of the chemical structures of phytoestrogens, estradiol, and diethylstilbestrol	11
3.1 Serum levels of gonadotropins (FSH and LH) and ovarian hormones (estradiol and progesterone) of normal cyclic monkeys.....	30
3.2 Changes in serum levels of gonadotropins (FSH and LH) and ovarian hormones (estradiol and progesterone) of monkeys treated with 10 mg of <i>P. mirifica</i>	31
3.3 Changes in serum levels of gonadotropins (FSH and LH) and ovarian hormones (estradiol and progesterone) of monkeys treated with 100 mg of <i>P. mirifica</i>	32
3.4 Changes in serum levels of gonadotropins (FSH and LH) and ovarian hormones (estradiol and progesterone) of monkeys treated with 1,000 mg of <i>P. mirifica</i>	33
4.1 Changes in serum levels of gonadotropins (FSH and LH) and ovarian hormones (estradiol and progesterone) of monkeys treated with 10 mg/day of <i>P. mirifica</i>	52
4.2 Changes in serum levels of gonadotropins (FSH and LH) and ovarian hormones (estradiol and progesterone) of monkeys treated with 100 mg/day of <i>P. mirifica</i>	56

List of Figures (cont.)

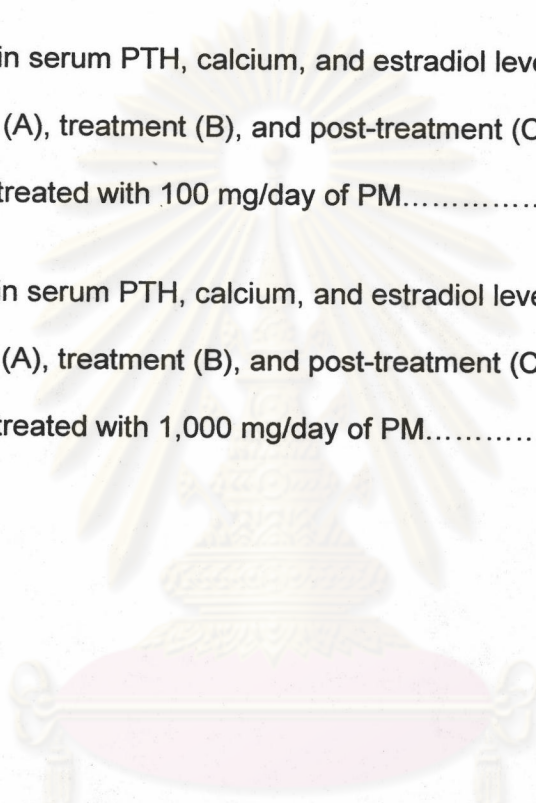
Figure	Page
4.3 Changes in serum levels of gonadotropins (FSH and LH) and ovarian hormones (estradiol and progesterone) of monkeys treated with 1,000 mg/day of <i>P. mirifica</i>	59
5.1 Changes in FSH levels during the pre-treatment, treatment, and post-treatment periods in aged menopausal monkeys treated with 10 (A), 100 (B), and 1,000 (C) mg/day of PM.....	77
5.2 Changes in LH levels during the pre-treatment, treatment, and post-treatment periods in aged menopausal monkeys treated with 10 (A), 100 (B), and 1,000 (C) mg/day of PM.....	78
5.3 Changes in estradiol levels during the pre-treatment, treatment, and post-treatment periods in aged menopausal monkeys treated with 10 (A), 100 (B), and 1,000 (C) mg/day of PM.....	79
5.4 Basal levels of gonadotropins (FSH and LH) and estradiol in aged monkeys	80
5.5 Serum levels of gonadotropins and estradiol during the treatment and post-treatment periods were adjusted to percent changes from the pre-treatment levels.....	81
6.1 Pattern of urinary excretion of FSH, LH, estradiol, and progesterone in normal menstrual cycle of adult female monkeys	103

List of Figures (cont.)

Figure	Page
6.2 Changes of urinary FSH, LH, estradiol, and progesterone levels in adult cyclic monkeys on a single feeding of PM-10.....	104
6.3 Changes of urinary FSH, LH, estradiol, and progesterone levels in adult cyclic monkeys on a single feeding of PM-100.....	107
6.4 Changes of urinary FSH, LH, estradiol, and progesterone levels in adult cyclic monkeys on a single feeding of PM-1,000	110
6.5 Changes in the levels of urinary FSH, LH, estradiol, and progesterone in adult cyclic monkeys fed daily with PM-10 for 90-day.....	113
6.6 Changes in the levels of urinary FSH, LH, estradiol, and progesterone in adult cyclic monkeys fed daily with PM-10 for 90-day.....	116
6.7 Changes in the levels of urinary FSH, LH, estradiol, and progesterone in adult cyclic monkeys fed daily with PM-10 for 90-day.....	119
6.8 Mean levels of urinary FSH, LH, and estradiol in aged menopausal monkeys treated with PM-10, PM-100, and PM-1,000	122
6.9 Correlation between FSH, LH, estradiol, and progesterone levels in serum and urine of adult cyclic and aged menopausal monkeys throughout the study period.....	123
7.1 Relationship between basal serum levels of PTH and calcium with estradiol in aged menopausal monkeys	136

List of Figures (cont.)

Figure		Page
7.2	Changes in serum PTH, calcium, and estradiol levels during the pre-treatment (A), treatment (B), and post-treatment (C) periods in monkeys treated with 10 mg/day of PM.....	137
7.3	Changes in serum PTH, calcium, and estradiol levels during the pre-treatment (A), treatment (B), and post-treatment (C) periods in monkeys treated with 100 mg/day of PM.....	138
7.4	Changes in serum PTH, calcium, and estradiol levels during the pre-treatment (A), treatment (B), and post-treatment (C) periods in monkeys treated with 1,000 mg/day of PM.....	139



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย