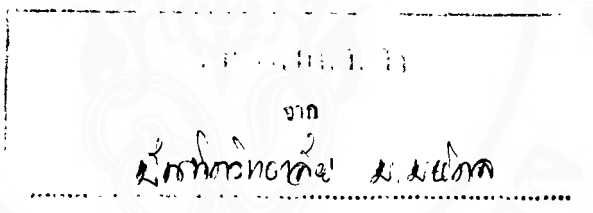


**STUDY ON THE EFFECT OF 2,6-DIHYDROXYACETOPHENONE
ON CHOLESTEROL METABOLISM IN HYPERLIPIDEMIC
HAMSTERS**

SIRIPORN TANOMCHART



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2000

ISBN 974-664-177-8

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

TH
S619T
2000

44776 e.2

4036427 SCBC/M: MAJOR: BIOCHEMISTRY; M. Sc (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : 2,6 DIHYDROXYACETOPHENONE / CURCUMA COMOSA/
CHOLESTEROL 7 α -HYDROXYLASE, HAMSTERS

SIRIPORN TANOMCHART: STUDY ON THE EFFECT OF 2,6-DIHYDROXYACETOPHENONE ON CHOLESTEROL METABOLISM IN HYPERLIPIDEMIC HAMSTERS. THESIS ADVISOR: PRAYAD KOMARATAT, Ph. D., PAWINEE PIYACHATURAWAT, Ph. D., PRAPON WILAIRAT, Ph.D.
125 p. ISBN 974-664-177-8.

2,6-Dihydroxyacetophenone (2,6-DHA) is an analogue of 2,4,6-trihydroxyacetophenone (THA), aglycone part of naturally occurring glucoside, 4,6-dihydroxy-2-O- (β -D-glucopyranosyl) acetophenone found in *Curcuma comosa* Roxb. (Family *Zingiberaceae*). 2,4,6-THA has been reported to effectively stimulate bile secretion by enhancing bile acid excretion resulting in decreased plasma cholesterol. Attempts have been made in this study to find out the mechanism by which 2,6-dihydroxyacetophenone (DHA) lowers plasma cholesterol in hypercholesterolemic hamsters. Studies were performed in male hamsters induced to become hyperlipidemic by supplementing cholesterol 0.2% body weight (BW) in corn oil for 3 weeks. After plasma cholesterol was elevated to 250-350 mg/dl, a dose of 2,6-DHA (300-800 μ mol/kg body weight) and duration of treatment which could reduce plasma lipids were determined. It was found that the optimum dose of 2,6-DHA which could reduce plasma cholesterol to 46% and plasma triglyceride to 73% of the untreated group was 400 μ mol/kg body weight and the suitable duration was 10 days. In order to determine how 2,6-DHA could reduce plasma cholesterol, livers of 2,6-DHA treated and untreated animals were analyzed for free cholesterol, cholesteryl ester and triglyceride contents. Liver microsomes were analyzed for the activity of cholesterol 7 α -hydroxylase, and a regulatory enzyme for conversion of cholesterol to bile salt. In feces, bile salt and total cholesterol were determined and in plasma, the distribution of cholesterol in VLDL, LDL and HDL fractions were measured. In the 2,6-DHA treated group, there was no significant difference on liver free cholesterol, cholesteryl ester or triglyceride content when compared with those of the untreated group. This indicated that 2,6-DHA had no effect on cholesterol storage and the key enzyme involved in cholesteryl ester synthesis, was acyl CoA cholesterol acyltransferase. However, in the liver microsome the activity of cholesterol 7 α -hydroxylase increased 7-fold in animals fed 2,6-DHA compared to that of untreated animals. In feces of treated animals the bile salt and total cholesterol increased 2- and 6-fold respectively. Moreover, regarding distribution of cholesterol in various fractions of plasma lipoproteins, 2,6-DHA decreased cholesterol in VLDL and LDL but not in HDL fraction.

The results obtained in this study indicate that the hypocholesterolemic effect of 2,6-DHA was on the activation of cholesterol 7 α -hydroxylase activity and the excretion of cholesterol and bile salt in feces. The increased fecal excretion of bile salt would up-regulate LDL-receptors leading to a lowering of cholesterol in VLDL and LDL fraction. Accordingly, this compound may have potential for development as a therapeutic agent for treatment of cholestasis, dissolving gallstones and lowering plasma lipid.

4036427 SCBC/M: สาขาวิชา : ชีวเคมี; วท. ม. (ชีวเคมี)

ศิริพร ถนนอมชาติ : การศึกษาผลของ 2,6 ไดไฮดรอกซีอะซิโตน ต่อเมตาบอลิซึมของโคเลสเตอรอลในหนูแฮมสเตอร์ที่มีไขมันสูง (STUDY ON THE EFFECT OF 2,6-DIHYDROXYACETOPHENONE ON CHOLESTEROL METABOLISM IN HYPERLIPIDEMIC HAMSTERS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ประหยัด โกมารทัต, Ph. D., ภาวิณี ปิยะจตุรวัฒน์ Ph. D., ประพนธ์ วิไลรัตน์, Ph. D. 125 หน้า. ISBN 974-664-177-8.

2,6-Dihydroxyacetophenone (DHA) เป็นอนุพันธ์ของ 2,4,6-trihydroxyacetophenone (THA) ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล (aglycone) ของไกลโคไซด์ 4,6-dihydroxy-2-O- (β -D-glucopyranosyl) acetophenone ที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรว่านชักมดลูก ซึ่งเป็นพืชในตระกูล *Zingiberaceae* ได้มีรายงานว่า 2,4,6-THA มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งน้ำดี โดยการเพิ่มการขับออกของเกลือน้ำดี เป็นผลทำให้สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดได้ งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ที่จะศึกษากลไกการทำงานของ 2,6-DHA ในการลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดของแฮมสเตอร์โดยทำการทดลองในหนูแฮมสเตอร์เพศผู้ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้อยู่ในสภาวะที่มีระดับโคเลสเตอรอลในเลือดสูง ประมาณ 250-350 mg/dl ด้วยการป้อนโคเลสเตอรอล 0.2% น้ำหนักตัว ที่ละลายในน้ำมันข้าวโพด เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นได้ทำการให้ 2,6-DHA (300-800 μ mol/kg body weight) ที่ระยะเวลาต่างๆกัน เพื่อหาปริมาณและระยะเวลาของการให้ 2,6-DHA ที่เหมาะสมที่สามารถลดระดับไขมันในพลาสมาได้ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณของ 2,6-DHA ที่ต่ำที่สุดที่สามารถลดระดับพลาสมาโคเลสเตอรอลได้ 46% และไตรกลีเซอไรด์ได้ 73% คือ 400 μ mol/kg body weight และระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้คือ 10 วัน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษากลไกการทำงานของ 2,6-DHA ในการลดระดับโคเลสเตอรอลในพลาสมา โดยการวัดระดับโคเลสเตอรอลรูบิโอสระ รูบิโอสระ ไตรกลีเซอไรด์ในตับและ activity ของเอนไซม์ cholesterol 7 α -hydroxylase ใน liver microsomes ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ควบคุมการเปลี่ยนโคเลสเตอรอลในตับให้เป็นเกลือน้ำดีรวมทั้งระดับของโคเลสเตอรอลในพลาสมาไลโปโปรตีน (VLDL, LDL และ HDL) ผลการทดลองที่ได้พบว่าในแฮมสเตอร์ที่ให้และไม่ได้ให้ 2,6-DHA ปริมาณโคเลสเตอรอล, โคเลสเตอรอลเอสเทอร์ และ ไตรกลีเซอไรด์ในตับ จะมีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า 2,6-DHA ไม่มีผลต่อเอนไซม์ Acyl CoA: cholesterol acyltransferase (ACAT) และไม่ทำให้มีการสะสมไขมันในตับ แต่ได้พบว่าในกลุ่มที่ได้รับ 2,6-DHA activity ของ เอนไซม์ cholesterol 7 α -hydroxylase เพิ่มขึ้น 7 เท่า และมีปริมาณของ bile salt และโคเลสเตอรอลในอุจจาระเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า 2,6-DHA มีผลในการลดโคเลสเตอรอล VLDL และ LDL แต่ HDL ไม่เปลี่ยนแปลง จากผลการทดลองสรุปได้ว่า 2,6-DHA สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดของแฮมสเตอร์ที่อยู่ในสภาวะ hyperlipidemia คล้ายคลึงกับ 2,4,6-THA โดยการเพิ่ม activity ของเอนไซม์ cholesterol 7 α -hydroxylase ทำให้โคเลสเตอรอลในตับถูกเปลี่ยนให้เป็น bile salt มากขึ้นและเพิ่มการขับออกของ เกลือน้ำดี และโคเลสเตอรอลทางอุจจาระ นอกจากนี้ 2,6-DHA ยังมีผลทำให้มีการลดปริมาณโคเลสเตอรอลใน ไลโปโปรตีน VLDL และ LDL ทำให้ลดอัตราการเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดอุดตัน ในงานวิจัยเรื่องนี้ให้แนวทางในการที่จะพัฒนานำ 2,6-DHA ไปใช้เป็นการลดระดับโคเลสเตอรอลและไขมันในเลือด และในขณะเดียวกันอาจจะช่วยป้องกันการเกิดนิ่วในถุงน้ำดี