

Thesis Title Chemical Component Variation, Cytotoxicity, Antioxidant and Stability of Volatile Oils from Thai Medicinal Plants

Author Miss. Rungthip Kawaree

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Sombat Chowwanapoonpohn	Chairperson
Asst. Prof. Dr. Weerachai Phutdhawong	Member
Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi	Member

ABSTRACT

The chemical components of the volatile oils obtained from twenty species of Thai medicinal plants, namely *Anethum graveolens* Linn., *Apium graveolens* Linn., *Centella asiatica* Urban, *Coleus amboinicus* Lour., *Coriandrum sativum* Linn., *Emilia sonchifolia* DC., *Eryngium foetidum* Linn., *Eupatorium odoratum* Linn., *Houttuynia cordata* Thunb., *Mentha virides* Linn., *Ocimum basilicum* Linn., *Ocimum canum* Sims., *Ocimum sanctum* Linn., *Piper sarmentosum* Roxb., *Polygonum odoratum* Lour., *Polyscias fruticosa* Harms., *Spilanthes acmella* Murr., *Vernonia cinerea* (L.) Less., *Cinnamomum bejolghota* Sweet., and *Knema lenta* Warb. were hydrodistilled and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In this study, terpene hydrocarbons (mono- and sesquiterpenes), as well as oxygenated terpenes were found in volatile oils of these particular species. Variation of the contents was found to be between 0.01-0.75%.

In the study of the cytotoxicity of volatile oils from ten species of medicinal plants, namely *Anethum graveolens* Linn., *Emilia sonchifolia* DC., *Eryngium foetidum* Linn., *Eupatorium odoratum* Linn., *Houttuynia cordata* Thunb., *Piper*

sarmentosum Roxb., *Polygonum odoratum* Lour., *Polyscias fruticosa* Harms., *Spilanthes acmella* Murr., and *Cinnamomum bejolghota* Sweet., it was found that the volatile oil from *Polyscias fruticosa* Harms. has the highest inhibition activity for mouse lymphocytic leukemia (P388) ($ED_{50} = 1.20 \mu\text{g/ml}$), as well as for human carcinoma of the floor of mouth (KB) ($ED_{50} = 20.00 \mu\text{g/ml}$). The volatile oil of *Eryngium foetidum* Linn. showed the highest inhibition activity for human mammary carcinoma (MCF-7) ($ED_{50} = 28.30 \mu\text{g/ml}$).

The study of antioxidant activity by ABTS, FRAP, and lipid peroxidation of the volatile oils obtained from the above mentioned twenty species of Thai medicinal plants showed that the volatile oil of *Ocimum sanctum* Linn. exhibited the highest antioxidant activity by all three assays. The TEAC values ranged widely from 20.11 to 288.95 μM trolox equivalents/mg sample. The volatile oil of *Ocimum sanctum* Linn. showed the highest antioxidant activity with a TEAC value of $788.95 \pm 0.00 \mu\text{M}$ trolox equivalents/mg sample, followed by those of *Polygonum odoratum* Lour., *Eupatorium odoratum* Linn. and *Spilanthes acmella* Murr. with TEAC values of 279.79 ± 0.00 , 278.85 ± 0.00 and $277.93 \pm 0.00 \mu\text{M}$ trolox equivalents/mg sample, respectively. The EC1 values ranged widely from 57.97 to 3244.04 $\mu\text{M/mg}$ sample. The volatile oil of *Ocimum sanctum* Linn. showed the highest antioxidant activity with a EC1 value of $3244.04 \pm 0.34 \mu\text{M/mg}$ sample, followed by those of *Coleus amboinicus* Lour., *Mentha virides* Linn. and *Cinnamomum bejolghota* Sweet. with EC1 values of 3244.04 ± 0.34 , 1007.07 ± 0.32 and $387.77 \pm 0.36 \mu\text{M/mg}$ sample, respectively. Percentage antioxidant activity ranged widely from 2.16 to 83.43%. The volatile oil of *Knema lenta* Warb. showed the highest antioxidant activity with a percent antioxidant activity of $83.43 \pm 0.00\%$, followed by those of *Ocimum canum* Sims., *Anethum graveolens* Linn. and *Spilanthes acmella* Murr. with %AA values of 35.36 ± 0.14 , 32.40 ± 0.07 and $28.10 \pm 0.05\%$, respectively.

The content of total phenolic compounds ranged widely from 4.82 to 599.55 $\mu\text{g/ml}$ sample. The volatile oil of *Ocimum sanctum* Linn. showed the highest content of total phenolic compounds with a GAE value of $599.55 \pm 0.15 \mu\text{g/ml}$ sample,

followed by those of *Spilanthes acmella* Murr., *Mentha virides* Linn. and *Eupatorium odoratum* Linn. with content of total phenolic compounds at 308.14 ± 0.76 , 184.93 ± 0.52 and 170.93 ± 1.93 $\mu\text{g/ml}$ sample, respectively.

Three conditions were employed to test the stability of the volatile oils, viz. *Coleus amboinicus* Lour., *Eupatorium odoratum* Linn., *Ocimum sanctum* Linn., and *Spilanthes acmella* Murr., at -20 , 30 and 45°C in 90 days. It was found that in the test of antioxidant activities by ABTS method in the three conditions, TEAC values decreased with increased time. The main chemical components were analyzed by GC-MS for stability test. The results showed that the volatile oil from *Ocimum sanctum* Linn. exhibited the highest stability in the three conditions of temperature. Other volatile oils were not stable in three conditions because their chemical components were much transformed.

The results in this research may supply useful information for the preparation or production of pharmaceuticals.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความแปรปรวนขององค์ประกอบทางเคมี ความเป็นพิษต่อเซลล์ การต้านออกซิเดชัน และความคงสภาพของน้ำมันหอมระเหย จากพืชสมุนไพรไทย

ผู้เขียน นางสาวรุ่งทิพย์ กาวารี

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร.สมบัติ เขาวนพูนผล

ประธานกรรมการ

ผศ.ดร.วีรชัย พุททวงศ์

กรรมการ

รศ.ดร.ศิริพร โอโกโนกิ

กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้ทำการสกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย จากพืชสมุนไพรไทย 20 ชนิด ได้แก่ ผักชีลาว, ขึ้นฉ่าย, บัวบก, เนียมหูเสือ, ผักชี, หางปลาช่อน, ผักชีฝรั่ง, สาบเสือ, พลูควา, สะระแหน่, โหระพา, แมงลัก, กะเพรา, ชะพลู, ผักแพรว, เล็บครุฑ, ผักคราดหัวแหวน, หญ้าละออง, อบเชย และเลื่อดควาย การสกัดใช้วิธีกลั่นด้วยไอน้ำ และวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี ในการทดลองนี้พบ เทอร์พีนไฮโดรคาร์บอน (โมโน และเสตควิเทอร์พีน) และเทอร์พีนที่มีออกซิเจนในน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้ การแปรปรวนของปริมาณน้ำมันหอมระเหยอยู่ระหว่าง 0.01-0.75%.

จากการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ ผักชีลาว, หางปลาช่อน, ผักชีฝรั่ง, สาบเสือ, พลูควา, ชะพลู, ผักแพรว, เล็บครุฑ, ผักคราดหัวแหวน และอบเชย พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเล็บครุฑมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลิควิเมีย (P388) สูงที่สุด ($ED_{50} = 1.20 \mu\text{g/ml}$) และมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเยื่อช่องปาก (KB) สูงที่สุด ($ED_{50} = 20.00 \mu\text{g/ml}$) และน้ำมันหอมระเหยจากผักชีฝรั่งมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) สูงที่สุด ($ED_{50} = 28.30 \mu\text{g/ml}$)

การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS, FRAP และ Lipid peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรไทยทั้ง 20 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากแมงลักมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดในทั้งสามวิธี ค่า TEAC มีค่าอยู่ในช่วง 20.11 ถึง 288.95 μM เทียบเท่า trolox 1 มิลลิกรัม น้ำมันหอมระเหยจากแมงลักมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด คือ มีค่า TEAC $788.95 \pm 0.00 \mu\text{M}$ เทียบเท่า trolox 1 มิลลิกรัม รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากผักแพรว, สาบเสือ และผักคราดหัวแหวน มีค่า TEAC 279.79 ± 0.00 , 278.85 ± 0.00 และ $277.93 \pm 0.00 \mu\text{M}$ เทียบเท่า trolox 1 มิลลิกรัม ตามลำดับ ค่า EC1 มีค่าอยู่ในช่วง 57.97 ถึง 3244.04 $\mu\text{M}/\text{mg}$ น้ำมันหอมระเหยจากแมงลักมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด คือ มีค่า EC1 $3244.04 \pm 0.34 \mu\text{M}/\text{mg}$ รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากหูกเห็บ, สะระแหน่ และอบเชย มีค่า EC1 3244.04 ± 0.34 , 1007.07 ± 0.32 และ $387.77 \pm 0.36 \mu\text{M}/\text{mg}$ ตามลำดับ % Antioxidant activity มีค่าอยู่ในช่วง 2.16 ถึง 83.43% น้ำมันหอมระเหยจากเลือดควายมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด $83.43 \pm 0.00\%$ รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากแมงลัก, ผักชีลาว และ ผักคราดหัวแหวน มี % Antioxidant activity 35.36 ± 0.14 , 32.40 ± 0.07 และ 28.10 ± 0.05 ตามลำดับ ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิครวมอยู่ในช่วง 4.82 ถึง 599.55 $\mu\text{g}/\text{ml}$ น้ำมันหอมระเหยจากแมงลัก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิครวมสูงที่สุด คือ $599.55 \pm 0.15 \mu\text{g}/\text{ml}$ รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากผักคราดหัวแหวน, สะระแหน่ และสาบเสือ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิครวม 308.14 ± 0.76 , 184.93 ± 0.52 และ $170.93 \pm 1.93 \mu\text{g}/\text{ml}$ ตามลำดับ

การศึกษาความคงสภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ เนียมหูกเห็บ, สาบเสือ, กะเพรา และผักคราดหัวแหวน ทดสอบที่ -20 , 30 และ 45°C ใน 90 วัน ทดสอบประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ค่า TEAC จะลดลง วิเคราะห์ความคงสภาพขององค์ประกอบหลักทางเคมี โดยใช้ GC-MS พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากแมงลัก มีความคงสภาพขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยในทั้งสามสภาวะ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจาก เนียมหูกเห็บ, สาบเสือ และผักคราดหัวแหวน มีความคงสภาพน้อยเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหย

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทำตำรับหรือผลิตยาได้