

Thesis Title Cytotoxic Activity Screening of Some Rubiaceae Plants in
Northern Thailand

Author Miss. Patcharawan Tanamatayarat

M. Pharm. Pharmaceutical Chemistry

Examining Committee

Lect. Dr. Chadarat	Duangrat	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Porn-ngarm	Limtrakul	Member
Lect. Dr. Sunee	Chansakaow	Member
Asst. Prof. Dr. Uthai	Sotanaphun	Member

ABSTRACT

Twenty Rubiaceae plants in Northern Thailand were screened for their cytotoxic activity against breast carcinoma (MCF-7) and cervix carcinoma (KB-3-1) cell lines. Possible existence of cytotoxic components of a potential plant was also analyzed. The ethanolic extracts of *Gardenia obtusifolia* Roxb. ex Kurz. (Kra mop) and *Gardenia sootepensis* Hutch. (Kham mok luang) leaves were two species which exhibited the highest cytotoxic activity. Unlike *G. sootepensis*, chemical components of *G. obtusifolia* had not been widely reported in terms of their cytotoxic activity. Therefore, a bioassay-guided fractionation of this plant was employed to isolate its active components by using liquid-liquid partition combined with column chromatography. The fraction obtained from partitioning with chloroform exhibited the highest cytotoxic activity and was further purified, resulting in two yellow compounds designated GO.1 and GO.2. The cytotoxic

activity of GO.1 exhibited only against MCF-7 with IC_{50} of 7 $\mu\text{g/ml}$, but it has no activity against KB-3-1 ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$). In contrast, GO.2 showed strong activity against KB-3-1 with IC_{50} of 2.5 $\mu\text{g/ml}$, but it has no activity against MCF-7 ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$). Chemical structure of both compounds were flavonoids tested by phytochemical screening. Based on spectral evidence, the structure of GO.1 was proposed as 5,3'-dihydroxy-3,6,7,8,4'-pentamethoxyflavone, a known flavone firstly isolated from *Gutierrezia microcephala*, whereas the structure of GO.2 was unable to identify due to a limit quantity of sample obtained from the isolation.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การคัดกรองความเป็นพิษต่อเซลล์ของพืชสมุนไพรในวงศ์ Rubiaceae บางชนิดในภาคเหนือของประเทศไทย

ชื่อผู้เขียน นางสาวพัชรวรรณ ตันอมาตยรัตน์

ภาสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

อ. ดร. ชฎารัตน์	ดวงรัตน์	ประธานกรรมการ
รศ. ดร. พวงาม	ลัมตระกูล	กรรมการ
อ. ดร. สุณีย์	จันทร์สกา	กรรมการ
ผศ. ดร. อุทัย	โสธนะพันธ์ุ	กรรมการ

บทคัดย่อ

พืชในวงศ์รูเบียซี 20 ชนิดที่พบในภาคเหนือของประเทศไทยได้ถูกนำมาคัดกรอง เพื่อหาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (KB-3-1) และทำการวิเคราะห์เพื่อหาองค์ประกอบจากพืชที่มีศักยภาพที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์สูง พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากใบของ *Gardenia obtusifolia* Roxb. ex Kurz (กระมะอบ) และ *Gardenia sootepensis* Hutch. (คำมอกหลวง) เป็นพืชสองชนิดที่แสดงความเป็นพิษสูงที่สุดต่อเซลล์มะเร็ง ไม่เหมือนกับคำมอกหลวง กระมะอบไม่มีรายงานมากนักถึงสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นจึงแยกหาสารสำคัญจากพืชชนิดนี้ด้วยการใช้การวิเคราะห์ทางชีวภาพเป็นแนวทางร่วมกับการแยกสารสำคัญด้วยตัวทำละลายและวิธีโครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์ พบว่าส่วนของสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มให้สารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสุด และทำการแยกสารให้บริสุทธิ์จากชั้นนี้ได้สารประกอบสีเหลืองสองชนิด คือ GO.1 และ GO.2 ซึ่งสารประกอบ GO.1 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมด้วยค่า IC_{50} 7 $\mu\text{g/ml}$ แต่ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$) ใน

ทางตรงกันข้าม สารประกอบ GO. 2 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกสูงด้วยค่า IC_{50} 2.5 $\mu\text{g/ml}$ แต่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$) เมื่อศึกษาเบื้องต้นทางพิษเคมีพบว่าโครงสร้างหลักของสารทั้งสองเป็น flavonoids และจากข้อมูลการศึกษาทางสเปกโตรสโคปี ได้เสนอโครงสร้างที่เป็นไปได้มากที่สุดของสาร GO.1 คือ 5,3'-dihydroxy-3,6,7,8,4'-pentamethoxyflavone ซึ่งเป็นสารกลุ่ม flavones ที่พบครั้งแรกในพืช *Gutierrezia microcephala* ขณะที่ไม่สามารถหาสูตรโครงสร้างของสาร GO.2 ได้เนื่องจากตัวอย่างที่แยกได้มีปริมาณน้อยมาก