

Thesis Title Chemical Constituents and Bioactivity of Some *Ophiorrhiza* Species

Author Mrs. Nichakan Phoowiang

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Dammrong Santiarworn	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Boomsom Liawruangrath	Member
Prof. Dr. Hiromitsu Takayama	Member

ABSTRACT

The *Ophiorrhiza* genus plant is a local plant, grown in northern part of Thailand. The phytochemical screening, antimicrobial, antioxidation activities of crude methanolic extract and anticancer activities of crude ethyl acetate extract of *Ophiorrhiza trichocarpon* Bl., *Ophiorrhiza rugosa* Wall. and *Ophiorrhiza* aff. *nutans* Cl. ex Hk. f. were investigated. The analysis of these plant extracts were performed by chemical tests and thin layer chromatography. The antimicrobial activities were also determined by agar diffusion method, using gentamycin and ketoconazole as references. The antioxidation activity was evaluated by scavenging effect on 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH[•]) method. The cytotoxicity and anticancer activity was determined by Sulforhodamine B (SRB) assay and Resazurin Microplate assay (REMA) using African green monkey kidney (Vero) cells, small cell lung cancer, breast cancer and KB-Oral cavity cancer. The results indicated that alkaloid, coumarin, and anthraquinone glycoside were present in all crude methanolic extracts. But scopoletin and saponine were present in crude methanolic extracts of *O. trichocarpon* Bl., and *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. The antibacterial activity of these plants was also studied. The methanolic extract of *O. trichocarpon* Bl., *O. rugosa*

Wall. and *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. showed inhibition zones against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. It also showed inhibition zones of *Candida albicans*, *Trichophyton mentagophyte* and *Aspergillus flavas* respectively. All the crude extracts possessed antioxidant activities. The crude methanolic extract of *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. showed the highest antioxidant capacity ($IC_{50}=2.76 \text{ mg mL}^{-1}$). All *Ophiorrhiza* species which were selected for this study exhibited anticancer activities against KB-Oral Cavity cancer and NCI-H187-Small cell lung cancer.

The antioxidant activities of crude hexane, dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol extracts of *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. were also determined by DPPH assay. All crude extracts possessed antioxidant activities. The ethyl acetate extract showed the highest antioxidant capacity ($IC_{50}=1.99 \text{ mg/mL}$). The crude hexane, dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol extracts gave inhibition zone against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. All the crude extracts showed inhibition zones against *Trichophyton mentagophyte* except the crude n-butanol extract. Only the crude ethyl acetate extract gave inhibition zone against *Escherichia coli*.

Six compounds were elucidated from *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. Bata-sitosterol, stigmasterol, ursolic acid and scopoletin were isolated from crude dichloromethane extract. But blumenol A and harman were also isolated from ethyl acetate extract.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสกุล *Ophiorrhiza*
บางชนิด

ผู้เขียน นาง ณิษกานต์ ภูเวียง

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร.ดำรงณ์ สานติอวารณ์ ประธานกรรมการ

รศ. ดร.บุญสม เหลียวเรืองรัตน์ กรรมการ

ศ. ดร. ฮิโรมิตสึ ทากายามา กรรมการ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพ ของพืชสกุล *Ophiorrhiza* บางชนิด ได้แก่ *Ophiorrhiza trichocarpon* Bl., *Ophiorrhiza rugosa* Wall. และ *Ophiorrhiza* aff. *nutans* Cl. ex Hk. f. ที่พบในภาคเหนือของประเทศไทย โดยทำการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น ด้วยวิธีทดสอบทางเคมี และวิธีโครมาโตกราฟีผิวบาง, ตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี agar diffusion, ตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี scavenging effect on 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH[•]) ของสารสกัดเมทานอล และ ตรวจสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง ของสารสกัด เอทิลอะซิเตต ด้วยวิธี Sulforhodamin B (SRB) และวิธี Resazurin Microplate assay (REMA)

ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเมทานอล ของพืชสกุล *Ophiorrhiza* ทั้ง 3 ชนิดตรวจพบสารกลุ่ม alkaloids, coumarin และ anthraquinone glycoside แต่ scopolatin และ saponin ตรวจพบเฉพาะใน *O. trichocarpon* Bl. และ *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. สำหรับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย จากสารสกัดเมทานอล ของพืช *Ophiorrhiza* ทั้ง 3 ชนิดนั้น มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา ได้แก่ *Trichophyton mentagophyte*, *Aspergillus flavas* และยีสต์ *Candida albicans* ตามลำดับ ส่วนการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดเมทานอล จาก *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (IC₅₀=2.76 mg mL⁻¹) และสารสกัดจากพืชสกุล *Ophiorrhiza* ทั้ง 3 ชนิดยังมีฤทธิ์ต้านมะเร็งในช่องปาก และ มะเร็งลำไส้ได้

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายจาก เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิล อะซิเตต และ เอ็น-บิวทานอล ของ *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. พบว่าสารสกัดเอทิล อะซิเตต มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($IC_{50}=1.99 \text{ mg mL}^{-1}$) และยังพบว่าสารสกัดทั้งหมดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans* และยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *T. mentagophyte* ยกเว้น สารสกัด n-Butanol ส่วนสารสกัด ethyl acetate เท่านั้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. Coli*

องค์ประกอบทางเคมี ทั้ง 6 ที่แยกได้จาก *O. aff. nutans* Cl. ex Hk. f. ได้แก่ β -Sitosterol, Stigmasterol, Ursolic acid และ Scopoletin แยกได้จากสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน แต่ Blumenol A และ Harman แยกได้จากสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved