

Thesis Title Cytotoxicity, Antimutagenicity and Inhibitory Effect on Morphological Changes of Cultured Cell Induced by UV of Thai Medicinal Plant Extracts

Author Ms. Wijitra Nittayajaiprom

Degree Master of Science (Chemistry)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Sirirat Chancharunee

Advisor

Dr. Padchaneer Sangthong

Co-advisor

ABSTRACT

The biological activities of Thai plant extracts of *Terminalia chebula* Retzius, *Terminalia bellerica*, *Etingera elatior* (Jack) R.M. Smith, *Rosa damascena*, and *Rafflesia kerrii* Meijer were investigated for cytotoxicity, mutagenicity, antimutagenicity, antityrosinase and their effects on morphological changes on cell lines after induced by UV radiation to screen for novel botanical cosmetic ingredients. It was found that the all extracts showed low cytotoxicity in normal mouse fibroblast L929 and mouse melanoma B16F10 cell lines with 50% cytotoxicity dose (CD₅₀) values at $5.43 \pm 0.18 - 39.39 \pm 0.14$ mg/ml and $4.35 \pm 0.33 - 58.23 \pm 0.18$ mg/ml for normal and melanoma fibroblast cell lines, respectively. Genotoxicity studies revealed that all the extracts showed no mutagenicity with the concentrations up to 87.34 mg/plate when tested with *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains in the presence and absence of metabolic activation (S9 microsomal fraction). The extracts were further tested for the antimutagenic activity against

2-aminoanthracene (2-AA) and 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2) which were used as mutagens. Interestingly, the extracts of *T. chebula* Retz., *T. bellerica* and *R. kerrii* Meijer exhibited inhibitory effect on the mutagenicity after induced by 2AA and AF-2 in *S. typhimurium* TA98 and TA100 strains in the presence and absence of metabolic activation. Whereas, *E. elatior* (Jack) R.M. Smith and *R. damascena* extracts showed co-mutagenic activity with 2-AA and AF-2 mutagens in both bacterial strains. All plant extracts were further investigated for tyrosinase inhibitory activity. It was found that all the extracts showed tyrosinase inhibitory activity with 50% inhibitory concentration values of the plant extracts (IC₅₀) values at $1.27 \pm 0.49 - 39.96 \pm 0.21$ mg/ml. The effect of plant extracts on cell morphological changes after treated with UVA and UVB radiation were investigated using normal and melanoma mouse fibroblast cell lines. The results revealed that all the extracts have no effect on morphological changes in both fibroblast cell lines. The total phenolic contents (TPC) of the five plant extracts were determined by the Folin-Ciocalteu method. All of extracts showed the total phenolic contents between $14.90 \pm 0.02 - 112.40 \pm 0.08$ mg GAE/g of wet weight. The results suggested that the extracts of *T. chebula* Retz., *T. bellerica* and *R. kerrii* Meijer showed high potential applications for cosmetics according to their low cytotoxic effect, antimutagenicity and antityrosinase activity.

ลิขสิทธิ์ © by Chiang Mai University

All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความเป็นพิษต่อเซลล์ การต้านการก่อกลายพันธุ์และผลยับยั้งการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของเซลล์เลี้ยงที่ถูกเหนี่ยวนำจากรังสียูวีของสารสกัดสมุนไพรไทย

ผู้เขียน นางสาวจิตรานิตยใจพรหม

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. ศิริรัตน์ จันทจักรุณี อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ดร. พัทธนิ แสงทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรไทย จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Terminalia chebula* Retzius (สมอไทย) *Terminalia bellerica* (สมอพิเภก) *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith (ดาหลา) *Rosa damascena* (กุหลาบมอญ) และ *Rafflesia kerrii* Meijer (บัวผุด) ในด้านความเป็นพิษต่อเซลล์เลี้ยง ฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ ฤทธิ์การต้านการก่อกลายพันธุ์ ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของไทโรซิเนสและผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของเซลล์เลี้ยงที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยรังสียูวีเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดทั้ง 5 ชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์เลี้ยงปกติ (normal fibroblast L929) และเซลล์มะเร็ง (melanoma fibroblast B16F10) ต่ำ ด้วยค่า 50% cytotoxicity dose (CD_{50}) เท่ากับ $5.43 \pm 0.18 - 39.39 \pm 0.14$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ $4.35 \pm 0.33 - 58.23 \pm 0.18$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ในการทดสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้นสูงถึง 87.34 มิลลิกรัมต่อ plate พบว่าไม่มีฤทธิ์เป็นสารก่อกลายพันธุ์ เมื่อทดสอบในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ทั้งในภาวะที่มีและไม่มีสารกระตุ้นวิธิเมตาบอลิซึมด้วย S9 microsomal fraction สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดทั้ง 5 ชนิด ต่อสารก่อกลายพันธุ์ 2-aminoanthracene (2-AA) และ 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2) พบว่าสารสกัดสมุนไพรไทย สมอพิเภกและบัวผุด มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ต่อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ที่เติม 2-AA และ AF-2 ทั้งในภาวะที่มีและไม่มีสารกระตุ้นวิธิเมตาบอลิซึม ในขณะที่สารสกัดจากดาหลา

และกุหลาบมอญมีฤทธิ์เป็นสารก่อกลายพันธุ์ร่วม (co-mutagen) กับ 2-AA และ AF-2 ในแบคทีเรีย ทั้งสองสายพันธุ์ และเมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่าสารสกัด ทั้ง 5 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยค่าความเข้มข้นในการยับยั้ง (IC_{50}) เท่ากับ $1.27 \pm 0.49 - 39.96 \pm 0.21$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้เมื่อนำสารสกัดทั้ง 5 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์การเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์เลี้ยงปกติและเซลล์มะเร็ง ภายหลังจากการ เหนี่ยวนำด้วยรังสียูวีเอและรังสียูวีบี จากผลการทดลองพบสารสกัดทั้งหมดไม่มีผลต่อการ เปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์เลี้ยงทั้งสองชนิด ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดในสารสกัดทั้ง 5 ชนิดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่าสารสกัดทั้ง 5 ชนิด มีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง $14.90 \pm 0.02 - 112.40 \pm 0.08$ มิลลิกรัม GAE ต่อกรัม น้ำหนักเปียกของสารสกัด จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์เลี้ยงต่ำ ฤทธิ์การ ต้านการก่อกลายพันธุ์ ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งให้เห็นว่าสารสกัด สมุนไพรสมอไทย สมอพิเภกและบัวผุด มีศักยภาพสูงในการนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved