

STUDY OF CYTOTOXIC AND ANTIAMOEBC COMPONENTS FROM *POUZOLZIA INDICA* GAUDICH.VAR. *ANGUSTIFOLIA* WEDD.

CHANYAPAT SANGSUWON 4836176 PYPP/D

Ph.D.(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: WEENA JIRATCHARIYAKUL, Dr.rer.nat., TANAWAN KUMMALUE,M.D., M.Sc.(Clin.Sc), KOSOL ROONGRUANGCHAI, M.D.,YAOWALAK U-PRATYA, M.Sc.

## ABSTRACT

*Pouzolzia indica* Gaudich. var. *angustifolia* Wedd.( Thai name Non tai bai hong) is a Thai medicinal plant in the Urticaceae family. *P. indica* is Thai traditional medicines, used as remedies for the ailments in female infertility, emmenagogue, inflammation, relieving from cancer, as insecticide.

The cytotoxicity test previously showed methanol fraction, which was eluted from Diaion HP20 column, was cytotoxic against to leukemic cells (NB4 and HT93A) with ED<sub>50</sub> values of 24.57 and 49.80 µg/ml, respectively. Hence, this study kept on the fractionation to identify cytotoxic compounds of the methanolic fraction with silica gel column, solvent system of ethyl acetate- hexane (1, 3, 5, 7,10...30%) and methanol-ethyl acetate (1, 3, 5, 7, 10...30%), five fractionated fraction (FFI-FFV), were obtained according to the increasing polarity. The isolated compounds included FFII friedelin (C1), 28-hydroxy friedelanone (C2) 7-methoxycoumarin (C3) FFIII stigmaterol (C4), 6,7-dimethoxycoumarin (C5), scopoletin (C6), (E)-methyl-3(3',4'-dihydroxyphenyl)acrylate (C7), sphinganine (C8) 4,5-dihydroxydehydrosphinganine(C9) FFIV 3-β-O-D-glucopyranosyl-24ξ-ethyl-cholesta-5-ene(C10), sphingolipid disaccharide (C11) and FFV 3,4-dihydroxy anisole (C12), methyl-3,4-dihydroxy benzoate(C13), and glucosyl-3,4-dihydroxy-benzoate (C14).

The cytotoxicity test of FFI-FFV had performed against the leukemic cells, they were NB4, K562, HT93A and Kasumi. FFI and FFV were inactive and adherent cancer cell lines(A549) are summarized :

FFII, FFIII and FFIV were active had the ED<sub>50</sub> value of 15.05, 13.30, 32.07 µg/ml (for NB4), respectively 28.90, 8.91, 31.77 µg/ml(for K562) respectively, 30.38, 9.69, 10.51 µg/ml (for HT93A), respectively and 56.32, 12.64, 15.38 µg/ml (for Kasumi), respectively.

FFII, FFIII were also cytotoxicity against lung cancer cells A549 with the ED<sub>50</sub> value of 32.69 and 32.10 µg/ml, respectively.

The previous study of antiameobic test of the methanolic fraction indicated the lowest concentration of the fraction, which killed 50% of *Acanthamoeba* cysts 62.5µg/ml. The antiameobic test of FFI-FFV produced the following result. Methanolic fraction and isolated pure compounds (C6, C10, C12, C13 and C14)were investigated for antiameobic test. Antiameobic activity against are summarized:

FFIII FFIV and FFV killed *Acanthamoeba* cysts 58.0, 53.3 and 57.1% respectively, with the lowest concentration of 31.25µg/ml for 72h.

The antiameobic components included C10, C13 and C14 killed, active 72h, 56.1, 78.1 and 56.1%, respectively, with the lowest concentration of 7.81µg/ml, C12 killed, active 48h , 77% of antiameobic with the lowest concentration of 125µg/ml .

การศึกษาองค์ประกอบที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์และต้านอะมีบาของสมุนไพรหนอนตายใบหูก  
STUDY OF CYTOTOXIC AND ANTIAMOEBIC COMPONENTS FROM *POUZOLZIA INDICA* GAUDICH. VAR.  
*ANGUSTIFOLIA* WEDD.

จรรยาพัฒน์ แสงสุวรรณ 4836176 PYPP/D

ปร.ด.(เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : วิชา จีรังษยาคุณ, Dr.rer.nat, ชนวรรณ กุมมาลือม M.S.(Clin.Sc),  
โกศล รุ่งเรืองชัย M.D., เขวลักษณ์ อุประญา, M.Sc.

#### บทคัดย่อ

สมุนไพรหนอนตายใบหูก(*Pouzolzia indica* Gaudich.var.*angustifolia* Wedd.) ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Uticaceae สรรพคุณพื้นบ้าน ใช้เป็นยาขับระดู ลดการอักเสบ รักษาเมะเร็ง และ กำจัดแมลง จากการศึกษาที่มีมาก่อน โดยทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด NB4 และ HT93A โดยมีค่าED<sub>50</sub> 24.57 และ 49.80 µg/ml ตามลำดับ ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงทำการแยกส่วนของแฟรกชันเมทานอล เพื่อหาองค์ประกอบที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยคอลัมน์ซิลิกาเจล โดยระบบตัวทำละลายประกอบด้วย เอทิลอะซิเตท และ เฮกเซน(1, 3, 5, 7,10...30%) ตามด้วย เมทานอล และ เอทิลอะซิเตท (1, 3, 5, 7,10...30%)ซึ่งแยกตามลำดับของความมีขั้วได้ 5 แฟรกชัน (FFI-FFV) จากFFII แยกสารได้ friedelin (C1) 28-hydroxyfriedelanone (C2) 7-methoxy coumarin(C3) FFIII แยกได้สาร stigmasterol (C4) 6,7-dimethoxy coumarin (C5) scopoletin (C6) (E)-methyl-3(3',4'-dihydroxyphenyl)acrylate (C7) sphinganine (C8) 4,5-dihydroxydehydrosphinganine (C9) FFIV แยกได้สาร 3-β-O-D-glucopyranosyl-24ξ-ethyl-cholesta-5-ene (C10) sphingolipid disaccharide (C11) FFV แยกได้สาร 3,4-dihydroxyanisole (C12) methyl-3,4-dihydroxy benzoate (C13) และ glucosyl-3,4-dihydroxy-benzoate(C14)

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด NB4, K562, HT93A และ Kasumi พบว่า FFII, FFIII และ FFIV มีฤทธิ์ และมีค่า ED<sub>50</sub> เป็น 15.05 13.30 32.07 µg/ml ต่อเซลล์ NB4 ตามลำดับ 28.90 8.91 31.77 µg/ml ต่อเซลล์ K562ตามลำดับ และ 30.38 9.69 10.51 µg/ml ต่อเซลล์ HT93A ตามลำดับ และ 56.32, 12.64, 15.38 µg/ml ต่อเซลล์ Kasumi ตามลำดับ

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดชนิด A549 พบว่า FFII, FFIII มีฤทธิ์ และมีค่า ED<sub>50</sub> เป็น 32.69 และ 32.10 µg/ml ตามลำดับ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอะมีบาของแฟรกชันเมทานอลของสมุนไพรหนอนตายใบหูกที่มีมาก่อน พบว่ามีฤทธิ์ที่ทำให้อะมีบาตาย 50% ขึ้นไป ที่ 62.5µg/ml ดังนั้นจึงแยกสกัดสารในแฟรกชันเมทานอลต่อไป ซึ่งแยกต่อได้เป็น FFI-FFV จากนั้นจึงนำFFI-FFVมาทดสอบฤทธิ์ต้านอะมีบาได้ผลดังนี้ FFIII FFIV และ FFV ทำให้อะมีบาที่ตาย 58.0 53.3 และ 57.1% ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 31.25µg/ml และจากการทำโครมาโทกราฟีในส่วนของ FFII-FFV แยกได้สารสำคัญเป็น C1-C14 จึงนำสาร C6 C10 C12 C13 และC14 ซึ่งมีจำนวนมากพอ ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอะมีบาซึ่งสรุปผลได้ดังนี้ C10 C13 และC14 มีฤทธิ์ต้านอะมีบาเป็น 56.1, 78.1 และ 56.1% ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเป็น7.81µg/ml ในเวลา 72 ชั่วโมง ส่วน C12 เป็น 77% ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเป็น 125µg/ml ในเวลา 48 ชั่วโมง และพบว่า C6 ไม่มีฤทธิ์ต้านอะมีบา