เบญจวรรณ ดุนขุนทด : ความเป็นพิษและการเหนี่ยวนำการตายแบบอะพอพโตซิสต่อเซลล์มะเร็งโดยฮว่านง็อก (*Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk.) (CYTOTOXICITY AND APOPTOSIS INDUCTION BY LEAF EXTRACT OF HOAN-NGOC *PSEUDERANTHEMUM PALATIFERUM* (NEES) RADLK. ON HUMAN CANCER CELLS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบ็ญจมาศ จิตรสมบูรณ์, 121 หน้า.

สมุนไพรฮว่านง็อกเป็นพืชที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในคนเวียดนามและคนไทยสำหรับทั้งเป็นพืชสมุนไพรและไม้ประดับ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำต่อเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ในคน 4 ชนิด (เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวสายพันธุ์ Jurkat เซลล์มะเร็งตับสายพันธุ์ HepG2 เซลล์มะเร็งเต้านมสายพันธุ์ MCF-7 และเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากสายพันธุ์ PC-3) เทียบกับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยวของคน และประเมินฤทธิ์การเหนี่ยวนำการตายแบบอะพอพโตซิสของสารสกัดใบฮว่านง็อกต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวสายพันธุ์ Jurkat ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดประเมินด้วยเทคนิคเอมส์ ผลการทดลองพบว่าทั้งสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำมีปริมาณสารฟีนอลิกใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดทั้งสอง

การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ต่างชนิดมีความไวต่อฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำแตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด ความเป็นพิษของสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำต่อเซลล์มะเร็งสายพันธุ์เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ เซลล์ Jurkat > เซลล์ HepG2 > เซลล์ MCF-7 > เซลล์ PC-3 ดังนั้นเซลล์ Jurkat มีความไวต่อความเป็นพิษของสารสกัดทั้งสองมากที่สุด ที่สำคัญสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยวของคนต่ำกว่าเซลล์ Jurkat ที่ระดับของความเข้มข้นเดียวกัน

การเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสในเซลล์ Jurkat โดยสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำขึ้นกับทั้งความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาของการบ่ม ทั้งนี้สามารถบ่งชี้การตายแบบอะพอพโตซิสได้จากหลักฐานทางสัญฐานวิทยาของเซลล์ เอกลักษณ์การแตกหักของดีเอ็นเอแบบขั้นบันได การย้อมติดแอนเน็กซินไฟว์-เอฟไอทีซี และการหลั่งของไซโทโครมซีจากไมโทคอนเดรียสู่ไซโตพลาสซึม นอกจากนั้นข้อมูลจากเอฟทีไออาร์ ไมโครสเปกโตรส

โกปี แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของแมคโครโมเลกุล (ไขมัน กรดนิวคลีอิค และโครงสร้างลำดับที่สองของโปรตีน) ในเซลล์ที่ได้รับสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอะพอพโตซิส และการแตกหักของนิวคลีโอโซมระหว่างกระบวนการอะพอพโตซิสมากไปกว่านั้น สารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำในช่วงความเข้มข้น 150-600 ไมโครกรัมต่อเพลท ไม่มีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคเอมส์ โดยภาพรวมการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าทั้งสารสกัดใบฮว่านง็อกที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวสายพันธุ์ Jurkat โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสผ่านวิถีไมโทคอนเดรียและในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบสารสกัดทั้งสองไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในวิธีทดสอบเอมส์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2557 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

BENJAWAN DUNKHUNTHOD : CYTOTOXICITY AND APOPTOSIS INDUCTION BY LEAF EXTRACT OF HOAN-NGOC *PSEUDERANTHEMUM PALATIFERUM* (NEES) RADLK. ON HUMAN CANCER CELLS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. BENJAMART CHITSOMBOON, Ph.D. 121 PP.

HOAN-NGOC/ *PSEUDERANTHEMUM PALATIFERUM* (NEES) RADLK./CYTOTOXICITY/MUTAGENICITY/APOPTOSIS/HUMAN CANCER CELL LINE

Pseuderanthemum palatiferum (Nees) Radlk. (*P. palatiferum*) or Hoan-Ngoc is a medicinal plant that widely used in both Vietnamese and Thais as a medicinal and ornamental plant. This study aimed to investigate *in vitro* cytotoxic effects of *P. palatiferum* extracted by 95% ethanol (EEP) and water (WEP) on various human cancer cell lines (leukemia Jurkat, hepatoma HepG2, breast cancer MCF-7, and prostate cancer PC-3) compared to normal peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and assessed apoptosis induction of the extracts on Jurkat cells. The mutagenicity of the extracts was also evaluated by the Ames assay. The results showed that both EEP and WEP contained comparable levels of total phenolic contents. However, WEP contained higher total flavonoid contents than EEP ($p < 0.05$). Likewise, WEP possessed higher DPPH radical scavenging activity than EEP ($p < 0.05$).

In vitro cytotoxicity studies showed that various types of cancer cells exhibited different susceptibilities to EEP and WEP in a dose dependent manner. The

sensitivity of cancer cells to EEP and WEP extracts were ranged in the descending order of Jurkat > HepG2 > MCF-7 > PC-3. Therefore, Jurkat cell was the most sensitive to the lethal effect of both EEP and WEP. Importantly, both extracts exhibited the preferential cytotoxicity towards Jurkat cells but had less toxicity in normal PBMCs cells exposed to the same concentrations of both extracts.

EEP and WEP induced apoptotic cell death on Jurkat cells in both dose- and time-dependent manners as evidenced by the morphological changes, DNA ladder formation, annexinV-PI binding and the distribution of cytochrome C from mitochondria to cytosol. In addition, FTIR microspectroscopy also showed the changing of macromolecules (lipid, nucleic acid, and secondary structure of proteins) in EEP- or WEP-treated cells which can be related to changes of plasma membrane, apoptotic proteins, and internucleosomal DNA cleavage during apoptosis process. Moreover, the extracts in the range of 150 to 600 µg/plate had no mutagenicity in the Ames assay. This study suggested that both EEP and WEP exhibits antiproliferative effect on Jurkat cells by apoptosis induction through the mitochondrial pathway, and the extracts possesses at the range of study no mutagenic activity in the Ames assay.

School of Pharmacology Student's Signature_____

Academic Year 2014 Advisor's Signature_____