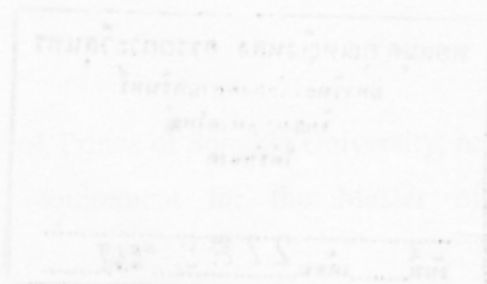




**Cytotoxic Activity Against Tumour Cells and Free Radical
Scavenging Activity of Zingiberaceous Rhizomes
Used as Spices**

Sariga Zaeoung



**Master of Pharmacy Thesis in Pharmaceutical Sciences
Prince of Songkla University**

T 2004
เลขที่: QK495.265 527 2004 C.1
Bib Key..... 243969
..... 27 D.A. 2547.

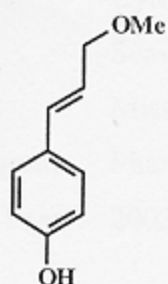
ชื่อวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและต้านอนุมูลอิสระของเหง้าพืชวงศ์ขิงที่ใช้เป็นเครื่องเทศ
ผู้เขียน สาริกา แซ่อึ้ง
สาขาวิชา เกษษศาสตร์
ปีการศึกษา 2546

บทคัดย่อ

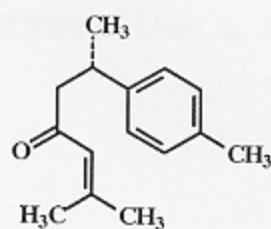
ได้นำสารสกัดเมธานอล สารสกัดน้ำและน้ำมันหอมระเหยของเหง้าพืชสดของข่า (*Alpinia galanga*) กระชาย (*Boesenbergia pandurata*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) เปราะหอม (*Kaempferia galanga*) และขิง (*Zingiber officinale*) มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging assay และทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF7 (breast adenocarcinoma cell line) และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ LS174T (colon adenocarcinoma cell line) พบว่าสารสกัดเมธานอลจากเหง้าขมิ้นชัน ขิง และข่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่คึกว่าสารสกัดน้ำและน้ำมันหอมระเหย โดยมีค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ 50 % (EC_{50}) เป็น 9.7, 35.6 และ 57.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง MCF7 และ LS174T ด้วยวิธี sulphorhodamine B (SRB) assay พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าพืชสดทั้ง 5 ชนิดและสารสกัดเมธานอลจากขมิ้นชันมีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง 50 % (IC_{50}) น้อยกว่า 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดเมธานอลจากขิงมี IC_{50} อยู่ในช่วง 75.0-80.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทั้งนี้ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระชายมีค่า IC_{50} ต่อเซลล์ LS174T ดีที่สุด คือ 12.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าขิงมีค่า IC_{50} ต่อเซลล์ MCF7 ดีที่สุด คือ 14.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย GC/MS พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่า กระชาย ขมิ้นชัน เปราะหอม และขิง ประกอบด้วยสารอย่างน้อย 13, 4, 22, 12 และ 13 ชนิด ตามลำดับ สารหลักที่มีปริมาณมากที่สุดในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่า กระชาย ขมิ้นชัน เปราะหอมและขิง คือ *trans*-3-acetoxy-1,8-cineole, camphor, ar-turmerone, ethyl cinnamate และ geranial (*E*-citral) ตามลำดับ

จากการศึกษาทางพิษวิทยาของสารสกัดเมธานอลจากข่า ขมิ้นชันและขิง สามารถแยกสารบริสุทธิ์ ชื่อ *p*-coumaryl-9-methyl ether ออกมาจากสารสกัดเมธานอลของข่า ซึ่งเป็นสารใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานการตรวจพบในเหง้าข่าและพืชอื่นๆ มาก่อน ส่วนสารสกัดเมธานอลของขมิ้นชันสามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 4 ชนิด คือ ar-turmerone, curcumin, demethoxycurcumin และ

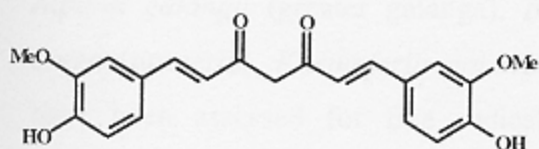
bisdemethoxycurcumin และจากสารสกัดเมธานอลของขิง สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 3 ชนิด คือ 6-shogaol, 6-dehydrogingerdione (หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า 1-dehydrogingerdione) และ 6-gingerol จากนั้นได้นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง LS174T และ MCF7 พบว่า curcumin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เป็น 2.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน demethoxycurcumin มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง LS174T ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ 6-shogaol มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง MCF7 ดีที่สุด โดยมี IC_{50} เท่ากับ 1.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่แสดงถึงศักยภาพทางยาของเหง้าพืชทั้ง 5 ชนิด ซึ่งควรจะได้นำไปศึกษาวิจัยขั้นสูงเพื่อใช้ป้องกันและรักษาโรคมะเร็งต่อไป



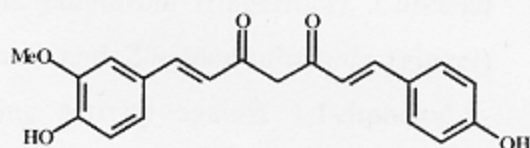
AGM1 (*p*-Coumaryl-9-methyl ether)



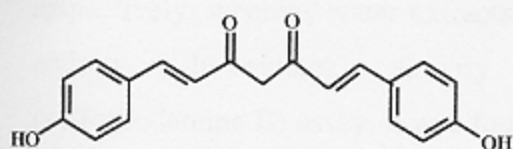
CLM01 (*ar*-Turmerone)



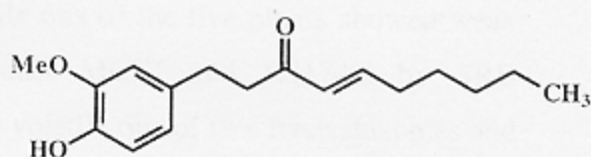
CLM02 (Curcumin)



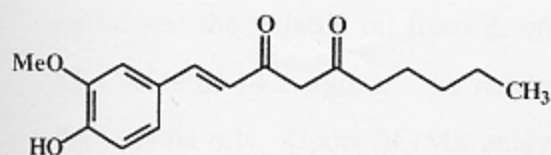
CLM03 (Demethoxycurcumin)



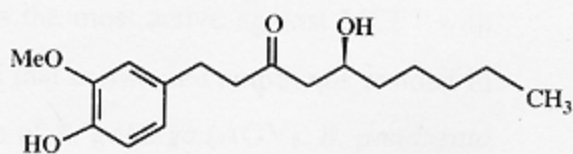
CLM06 (Bisdemethoxycurcumin)



ZOM0 (6-Shogaol)



ZOM1 (6-Dehydrogingerdione
or 1-Dehydrogingerdione)



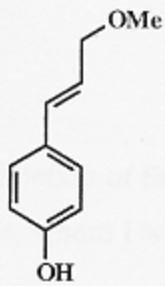
ZOM3 (6-Gingerol)

Thesis Title	Cytotoxic Activity Against Tumour Cells and Free Radical Scavenging Activity of Zingiberaceous Rhizomes Used as Spices
Author	Miss Sariga Zaeoung
Major Program	Pharmaceutical Sciences
Academic Year	2003

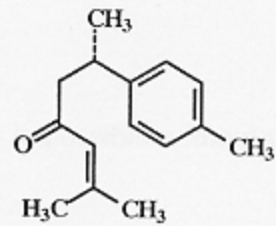
Abstract

Methanol extracts, water extracts and volatile oils of the fresh rhizomes of *Alpinia galanga* (greater galanga), *Boesenbergia pandurata* (fingerroot), *Curcuma longa* (turmeric), *Kaempferia galanga* (proh hom) and *Zingiber officinale* (ginger) have been assessed for free radical scavenging activity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical and cytotoxic activity against MCF7 (breast adenocarcinoma cell line) and LS174T (colon adenocarcinoma cell line). Methanol extracts of the fresh rhizomes from *C. longa*, *Z. officinale* and *A. galanga* exhibited pronounced radical scavenging activity with EC_{50} values of 9.7, 35.6 and 57.7 $\mu\text{g/ml}$, respectively, whereas water extracts and volatile oils of the five plants showed weak activity. In cytotoxic activity assay against MCF7 and LS174T by SRB (sulforhodamine B) assay, it was found that the volatile oils of five fresh rhizomes and the methanol extract of *C. longa* were active against MCF7 and LS174T with IC_{50} values less than 50 $\mu\text{g/ml}$. The methanol extract of *Z. officinale* was active against the two cell lines with IC_{50} values in the range of 75.0-80.0 $\mu\text{g/ml}$. The volatile oil from *B. pandurata* was found to be the most active against LS174T with IC_{50} value of 12.0 $\mu\text{g/ml}$ and the volatile oil from *Z. officinale* was the most active against MCF7 with IC_{50} value of 14.2 $\mu\text{g/ml}$. The results suggested that cytotoxic compounds resided in the volatile oils. Upon GC/MS analysis, the oils of *A. galanga* (AGV), *B. pandurata* (BPV), *C. longa* (CLV), *K. galanga* (KGV) and *Z. officinale* (ZOV) contained at least 13, 4, 22, 12 and 13 compounds, respectively. *Trans*-3-acetoxy-1.8-cineole, camphor, *ar*-turmerone, ethyl cinnamate and geranial (*E*-citral) were detected as main compounds in AGV, BPV, CLV, KGV and ZOV, respectively.

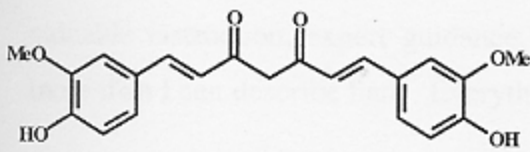
Phytochemical study of the methanol extract of *A. galanga* led to isolation of *p*-coumaryl-9-methyl ether. This is the first report of naturally occurring of this compound. Four compounds, α -turmerone, curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin were isolated from the methanol extract of *C. longa*. 6-shogaol, 6-dehydrogingerdione (also known as 1-dehydrogingerdione) and 6-gingerol were isolated from the methanol extract of *Z. officinale*. These eight isolated compounds were further tested for free radical scavenging activity and tested against human cancer cell lines LS174T and MCF7. Curcumin was the most potent compound for free radical scavenging activity with EC_{50} value of 2.0 $\mu\text{g/ml}$. Demethoxycurcumin was the most active compound against LS174T with IC_{50} value of 0.8 $\mu\text{g/ml}$ and 6-shogaol was the most potent compound against MCF7 with IC_{50} value of 1.7 $\mu\text{g/ml}$. The obtained results reveal medicinal efficacy of the rhizomes of these five Zingiberaceous spices and warrant further study to determine whether they could be of beneficial for the prevention and treatment of cancer.



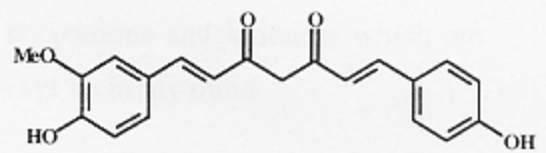
AGM1 (*p*-Coumaryl-9-methyl ether)



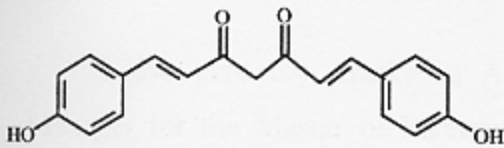
CLM01 (*ar*-Turmerone)



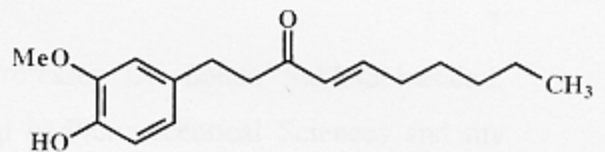
CLM02 (Curcumin)



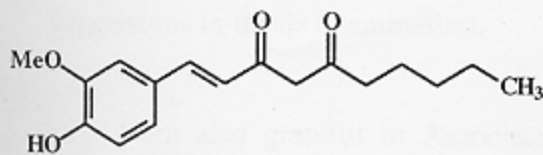
CLM03 (Demethoxycurcumin)



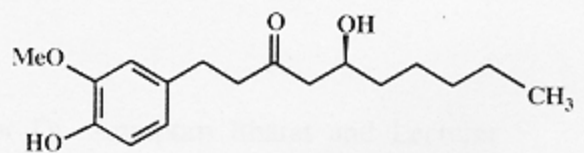
CLM06 (Bisdemethoxycurcumin)



ZOM0 (6-Shogaol)



ZOM1 (6-Dehydrogingerdione
or 1-Dehydrogingerdione)



ZOM3 (6-Gingerol)