

<b>Thesis Title</b>	<i>In vitro</i> Anti-cancer Activity Screening of Thai Medicinal Plant Recipes Selected from Thai Medicinal Plant Recipe Database “MANOSROI II”	
<b>Author</b>	Mr. Mathukorn Sainakham	
<b>Degree</b>	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Prof. Dr. Jiradej Manosroi	Advisor
	Prof. Dr. Aranya Manosroi	Co-advisor
	Dr. Witchapong Issarangporn	Co-advisor

### ABSTRACT

The objective of this study was to investigate anti-cancer activities of the Thai medicinal plant recipes selected from MANOSROI II database in four human cancer cell lines (KB; the human mouth epidermal carcinoma cell line, HeLa; the human cervical adenocarcinoma cell line, HT-29; the human colon adenocarcinoma cell line, HepG2; the human hepatocellular carcinoma cell line). The total of 100 anti-cancer recipes from four regions of Thailand was selected from 25,863 recipes of the MANOSROI II database. These recipes were extracted as instructed in the recipes and tested for phytochemical constituents, anti-proliferative activity by sulforhodamine B (SRB) assay, and apoptotic activity. For the percentage yields and phytochemical analysis, recipe No. S019 gave the highest percentage yield at 42.15% (w/w). Tannin was found in 83 recipes. The highest chemical constituent was flavonoid. Six recipes had the highest flavonoid contents. In anti-proliferative activity assay, recipe No. N040 showed the highest anti-proliferative activity on KB and HeLa cell lines with the IC<sub>50</sub> values of 5.18±0.51 and 0.11±0.03 µg/ml, respectively. Recipe Nos. S003 and N036 gave the highest anti-proliferative activity with the IC<sub>50</sub> values of 6.92±0.84 µg/ml in HT-29 cell line and 0.37±0.04 µg/ml in HepG2 cell line, respectively. The detection of apoptotic induction was investigated by acridine orange (AO)/ ethidium bromide (EB) staining. For 26 recipes which gave the IC<sub>50</sub> ≤ 100 µg/ml, recipe No. S016 gave the highest percentage of apoptotic cells in KB, HeLa and HT-29 cell lines at 33.14±5.73, 14.74±1.05 and 5.39±0.79%, respectively, while the extract from recipe No. CE014 showed the highest percentage of apoptotic cells in HepG2 cell lines at 1.45±0.89%. The results from this study have confirmed the effectiveness of the traditional uses of the anti-cancer medicinal plant recipes selected from the Thai medicinal plants recipe database MANOSROI II which can be applied for further development of new anti-cancer therapeutic agents.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การคัดกรองฤทธิ์ต้านมะเร็งในหลอดทดลองของตำรับยาสมุนไพรไทยที่คัดเลือกจากฐานข้อมูลตำรับยาสมุนไพรไทย “มโนสร้อย 2”	
ผู้เขียน	นายมธุกร สายนาคำ	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ. ดร. จีระเดช มโนสร้อย ศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย ทพ. วิชพงศ์ อิศรางพร	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของตำรับยาสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของตำรับยาสมุนไพรไทยที่คัดเลือกจากฐานข้อมูล มโนสร้อย 2 ต่อเซลล์มะเร็งในมนุษย์สี่ชนิดซึ่งได้แก่ มะเร็งช่องปาก (KB) มะเร็งปากมดลูก (HeLa) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) และมะเร็งตับ (HepG2) ได้คัดเลือกตำรับยาสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งจำนวน 100 ตำรับจากสี่ภาคของประเทศไทยจากตำรับยาสมุนไพรต้านมะเร็งจำนวน 25,863 ตำรับในฐานข้อมูล มโนสร้อย 2 ได้เตรียมสารสกัดหยาบจากตำรับที่ได้รับการคัดเลือกด้วยวิธีการที่ระบุในตำรับยา แล้วนำมาทดสอบหาสารฟลักซ์เคมี ฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ด้วยวิธีซัลโฟโรดามีนบี และฤทธิ์การเกิดอะพอพโทซิสโดยวิธีย้อมสีผสมอะครีตินอเรนจ์และเอทีเคียมโบรไมด์ จากการศึกษาร้อยละของผลผลิตและฟลักซ์เคมี พบว่าตำรับ S019 ให้ร้อยละของผลผลิตมากที่สุด (42.15 น้ำหนัก/น้ำหนัก) แทนนินเป็นสารประกอบที่พบมากที่สุดในการคัดเลือกมาโดยพบใน 83 ตำรับ มี 6 ตำรับซึ่งพบปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ให้ผลบวกมากที่สุด ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ ตำรับ N040 สามารถยับยั้งการแบ่งตัวได้สูงสุดในเซลล์มะเร็งช่องปากและเซลล์มะเร็งปาก

มดลูกที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $5.18 \pm 0.51$  และ  $0.11 \pm 0.03$   $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ การทดสอบในเซลล์มะเร็ง  
ลำไส้ใหญ่และตับพบว่าตำรับ S003 และ N036 สามารถยับยั้งการแบ่งตัวสูงสุดซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  
 $6.92 \pm 0.84$  and  $0.37 \pm 0.04$   $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ในการตรวจสอบฤทธิ์การเกิดอะพอโทซิสด้วยวิธี  
ย้อมสีอะคริดีนออเร้นจ์และเอซีเคียมโบรไมด์ใน 100 ตำรับ พบว่าตำรับที่มีค่าความเข้มข้น  $IC_{50}$  น้อย  
กว่า  $100$   $\mu\text{g/ml}$  จำนวน 26 ตำรับ สารสกัดจากตำรับ S016 มีร้อยละของจำนวนเซลล์ที่เกิดอะพอ  
โทซิสสูงสุดในเซลล์มะเร็งช่องปาก เซลล์มะเร็งปากมดลูกและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ที่  $33.14 \pm 5.73$ ,  
 $14.74 \pm 1.05$  และ  $5.39 \pm 0.79\%$  ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากตำรับ CE014 แสดงร้อยละของ  
จำนวนเซลล์ที่เกิดอะพอโทซิสสูงสุดในเซลล์มะเร็งตับที่  $1.45 \pm 0.89\%$  ผลการศึกษานี้ยืนยัน  
ประสิทธิภาพของตำรับยาสมุนไพรต้านมะเร็งที่คัดเลือกจากฐานข้อมูลคัมภีร์ตำรายาสมุนไพรไทย  
มโนสร้อย 2 ซึ่งจะสามารถนำไปพัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งตัวใหม่ได้ต่อไป