IN VITRO GENOTOXIC EFFECTS OF CLEISTANTHOSIDE A TETRAACETATE IN HUMAN LYMPHOCYTES AND SALMONELLA TYPHIMURIUM BACTERIA

RATIGON TAMMASAKCHAI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PATHOBIOLOGY) FACULTY OF GRADUATE STUDIES MAHIDOL UNIVERSITY 2009

COPY RIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY
สารไคสแตนโธไซด์เอ แตอิสเทตระอะซิเตรทได้รับการคัดเลือกมาจากสารไคสแตนโธไซด์เอ เทียกีคิวทางแบคทีเรียซัลโมเนลล่าไทฟิมูเรียมซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด จึงน่าสนใจในการพัฒนาเพื่อใช้เป็นยาต้านโรคมะเร็ง เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค สารใหม่ที่นำมาใช้เป็นยาจะต้องผ่านการทดสอบทั้งความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมและพิษต่อเซลล์ปกติ ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงกิจกรรมต่อสารพันธุกรรมของสารไคสแตนโธไซด์เอ เทียกีศิริชีววิทยา Salmonella/microsome assays และศึกษาความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมเชิงคลินิคของเซลล์พันธุกรรมในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ นอกจากนี้ ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อหาความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 โดยการย้อมด้วยสาร Trypan blue

ผลการศึกษาฤทธิ์กิจกรรมต่อสารพันธุกรรมของสารไคสแตนโธไซด์เอ เทียกีศิริชีววิทยา ที่มีมิกเซตระะตกิจกรรมในแบคทีเรียชนิด TA98 และ TA100 พบว่าสารที่มีความเข้มข้น 1, 25, 50 และ 100 µg/plate ไม่ย่อยเกิดการเพิ่มขึ้นของจานวนโคโลนีมีการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียชนิด 2 ชนิดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์กระตุ้น ส่วนการศึกษาพิษต่อสายพันธุกรรมของสารที่มีความเข้มข้น 1, 2.5 และ 5 µg/ml ในสภาวะที่มีเอนไซม์กระตุ้น 3 ชั่วโมง และไม่มีเอนไซม์กระตุ้น 24 ชั่วโมง ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของโอนโยยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อศึกษาถึงความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารนี้พบว่าสารที่มีความเข้มข้นมากกว่า 50 µg/ml จึงจะมีผลต่อการตายของเซลล์ร้อยละ 50

โดยสรุป สารไคสแตนโธไซด์เอ เทียกีศิริชีววิทยาไม่ย่อยเกิดการเพิ่มขึ้นในแบคทีเรียซัลโมเนลล่าไม่ได้ต่อสายพันธุ์ TA98 และ TA100 และไม่ย่อยเกิดการเสียหายต่อโครโมโซมในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ทั้งในสภาวะที่มีนิคซีและไม่มีเอนไซม์กระตุ้น นอกจากนี้จากการศึกษาขนาดไปยังพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติพบว่า IC50 ของสารไคสแตนโธไซด์เอ เทียกีศิริชีววิทยาค่าสูงกว่า 50 µg/ml

135 หน้า
IN VITRO GENOTOXIC EFFECTS OF CLEISTANTHOSIDE A TETRAACETATE IN HUMAN LYMPHOCYTES AND SALMONELLA TYPHIMURIUM BACTERIA

RATIGON TAMMASAKCHAI 4836494 SCPA/M

M.Sc. (PATHOBIOLoGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: LAKANA HIMAKOUN, M.Sc. (PATHOBIOLoGY), PATOOMRATANA TUCHINDA, Ph.D (ORGANIC CHEMISTRY), VIJITTRA LEARDKAMOLKARN, Ph.D (CELL BIOLOGY & ANATOMY)

ABSTRACT

Cleistanthoside A tetraacetate is a modified derivative of cleistanthoside A isolated from the aerial parts of Phyllanthus taxodiifolius Beille. Previously this substance has been reported to possess significant cytotoxic activity against several cancer cells in vitro. Therefore, it is interesting to apply cleistanthoside A tetraacetate in medicine for cancer treatment. An assessment of its genotoxic and cytotoxic potential is necessary to ensure a relatively safe use of this new compound or plant-derived medicine. Eventhough its toxicity for cancer cell lines have been evaluated, the cytotoxicity and genotoxicity for normal cells have not been studied. In this study, the mutagenic activity of cleistanthoside A tetraacetate was evaluated by Salmonella/ microsome assay and genotoxic activity was evaluated by cytogenetic study in human peripheral blood lymphocyte cultures. In addition, its cytotoxic potential to induce 50% cell viability inhibition (IC50) in human peripheral blood lymphocytes using Trypan blue staining technique was also studies.

The results showed that cleistanthoside A tetraacetate at the concentrations of 1, 25, 50 and 100 µg/plate did not induce an increase in revertant colonies of Salmonella typhimurium strains TA98 and TA100 when compared with the control group, in conditions with and without enzymatic activation. The genotoxicity study of cleistanthoside A tetraacetate, concentrations 1, 2.5 and 5 µg/ml, on human peripheral lymphocytes culture revealed no significant changes in chromosome structure after 3 hours and 24 hours of treatment under metabolic and non metabolic activation, respectively. It was found that at a concentration of more than 50 µg/ml, cleistanthoside A tetraacetate induced 50% cell death.

In conclusion, cleistanthoside A tetraacetate was found lacking in mutagenic activity in Salmonella typhimurium strains TA98 and TA100 and lacking in genotoxic effects on chromosome structure in human lymphocytes in conditions with and without enzymatic activation. Moreover, cytotoxicity assay in normal human lymphocytes indicated that the IC50 value for this substance was more than 50 µg/ml.

KEY WORDS: CLEISTANTHOSIDE A TETRAACETATE / GENOTOXIC EFFECT / CYTOGENETIC ASSAY / SALMONELLA / MICROSMO ASSAY

135 pages