

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิจัยสารต้านมะเร็งจากราเอนโดไฟท์ในพืชสมุนไพรไทย ได้คัดเลือกราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 7 isolates มาเพาะเลี้ยงในปริมาณมากเพื่อแยกสารบริสุทธิ์ การคัดเลือกพิจารณาจากข้อมูลฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและจากการวิเคราะห์สารสกัดหยาบด้วย proton NMR ราเหล่านี้ได้แก่ Lrub 20 จากกะตังใบดอกแดง, *Phomopsis* sp. Usia 5 จากเสน, *Phomopsis* sp. Mfer 5 จากบุนนาค, *Bipolaris* sp. Ctom 12 จากเคด, *Phomopsis* sp. Hant 25 จากกระเบาใหญ่, Atag 5 จากกระเช้าฝีมด และ Gspe 11 จากพุทธรักษา พบว่าราเอนโดไฟท์ Lrub 20 เป็นราใน class Dothideomycetes et Chaetothyriomycetes incertae sedis, subphylum Pezizomycotina, phylum Ascomycota รานี้สร้างสาร asterric acid ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (MIC 200 $\mu\text{g/ml}$) และสารที่เคยมีรายงานว่าได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี แต่ไม่เคยมีรายงานว่าเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ 2 ชนิด คือ 2-hydroxymethyl-3-methyl-cyclopent-2-enone มีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (MIC 200 $\mu\text{g/ml}$) และ 2-hydroxymethyl-3-methyl-cyclopentanone พบว่าราเอนโดไฟท์หลายชนิดสร้างสาร 3-nitropropionic acid ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคดีมาก (MIC 0.39 $\mu\text{g/ml}$) และมีรายงานว่าเป็น neurotoxin ราเหล่านี้ได้แก่ *Phomopsis* sp. Usia 5, *Phomopsis* sp. Mfer 5, *Phomopsis* sp. Grsp 19 จาก *Grewia* sp., *Phomopsis* sp. Rlyi 1 จากกุหลาบขาว, *Fusarium* sp. Tasp 15 จากไซหิน, *Fusicoccum* sp. Gell 14 จากทองแมว และ *Diaporthe* sp. Grsp 11 จาก *Grewia* sp. พบว่า *Bipolaris* sp. Ctom 12 สร้างสาร radicinol และ radicinin ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิด พบว่า *Phomopsis* sp. Hant 25 สร้างสาร mycoepoxydiene ซึ่งแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด สาร 5-Hydroxy-6-(8-methyl-9-oxa-bicyclo[4.2.1]nona-2,4-dien-7-yl)-5,6-dihydro-pyran-2-one ซึ่งเป็นสารที่เคยมีรายงานว่าได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี แต่ไม่เคยมีรายงานว่าเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และสารที่เป็นอนุพันธ์ของ mycoepoxydiene ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน พบว่าราเอนโดไฟท์ Atag 5 เป็นราที่ไม่สร้างสปอร์ และจัดอยู่ในวงศ์ Xylariaceae, order Xylariales, class Sordariomycetes, subphylum Pezizomycotina ราชนิดนี้สร้างสารหลายชนิด เช่น สารในกลุ่ม quinones ซึ่งแสดงความเป็นพิษต่อ KB cell (IC_{50} 11.14 $\mu\text{g/ml}$) สารในกลุ่ม lactones สารในกลุ่ม cytochalasins ซึ่งแสดงความเป็นพิษต่อ KB cell (IC_{50} 0.13 $\mu\text{g/ml}$) สารที่เป็นอนุพันธ์ของ rhizoctonic acid และ สารบริสุทธิ์อีก 3 ชนิด ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อเพื่อยืนยันสูตรโครงสร้างที่แน่นอน พบว่าราเอนโดไฟท์ Gspe 11 เป็นราที่ไม่สร้างสปอร์เช่นกัน และจัดอยู่ในวงศ์ Diatrypaceae, order Xylariales สารสกัดหยาบที่ได้จากน้ำหมักเชื้อแสดงความเป็นพิษต่อ KB cell (IC_{50} 1.8 $\mu\text{g/ml}$), BC cell (IC_{50} 1.4 $\mu\text{g/ml}$), NCI-H187 cell (IC_{50} 4.48 $\mu\text{g/ml}$) และ Vero cell (IC_{50} 3.7 $\mu\text{g/ml}$) เมื่อนำมาแยกให้บริสุทธิ์ ปรากฏว่าแยกได้สารบริสุทธิ์ 3 ชนิด ซึ่งอยู่ในระหว่างการศึกษารูปร่างโครงสร้าง

Abstract

This study aims to search for anticancer compounds from endophytic fungi isolated from Thai medicinal plants. A total of 7 endophytic fungus isolates were selected, based on anticancer activities and proton NMR analysis of crude extracts, for cultivation in large volume to isolate pure compounds. They were Lrub 20 (from *Leea rubra* Blume ex Spreng.), *Phomopsis* sp. Usia 5 (from *Urobotrya siamensis* Hiepko), *Phomopsis* sp. Mfer 5 (from *Mesua ferrea* Linn.), *Biporalis* sp. Ctom 12 [from *Catunaregam tomentosa* (Bl. Ex DC.) Tirveng], *Phomopsis* sp. Hant 25 (from *Hydnocarpus anthelminthicus* Pierre), Atag 5 (from *Aristolochia tagala* Cham.) and Gspe 11 (from *Gardenia* sp.). Isolate Lrub20 was classified in class Dothideomycetes et Chaetothyriomycetes incertae sedis, subphylum Pezizomycotina, phylum Ascomycota. It produced asterric acid which showed antimycobacterial activity with MIC of 200 $\mu\text{g/ml}$ and two chemically synthetic compounds, 2-hydroxymethyl-3-methyl-cyclopent-2-enone with antimycobacterial activity (MIC 200 $\mu\text{g/ml}$) and 2-hydroxymethyl-3-methyl-cyclopentanone, which were new natural products. Several endophytic fungus isolates were found to produce 3-nitropropionic acid, the neutrotoxic compound, which exhibited strong antimycobacterial activity with MIC of 0.39 $\mu\text{g/ml}$. They were *Phomopsis* sp. Usia 5, *Phomopsis* sp. Mfer 5, *Phomopsis* sp. Grsp 19 from *Grewia* sp., *Phomopsis* sp. Rlyi 1 from *Rhododendron lyi* Levl., *Fusarium* sp. Tasp 15 from *Tadehagi* sp., *Fusicoccum* sp. Gell 14 from *Gmelina elliptica* Sm. and *Diaporthe* sp. Grsp 11 from *Grewia* sp.. Radicinol and radicinin, which showed cytotoxic activity against several cell lines, could be isolated from *Bipolaris* sp. Ctom12. Mycoepoxydiene, a new mycoepoxydiene derivative and a chemically synthetic compound but being new natural product, 5-hydroxy-6-(8-methyl-9-oxa-bicyclo[4.2.1]nona-2,4-dien-7-yl)-5,6-dihydro-pyran-2-one, could be isolated from *Phomopsis* sp. Hant 25. It was found that mycoepoxydiene showed cytotoxic activity against several cell lines. Endophytic fungus isolate Atag 5 could be classified as mycelia sterilia in family Xylariaceae, order Xylariales, class Sordariomycetes, subphylum Pezizomycotina. This isolate produced a quinine compound with activity against KB cell (IC_{50} 11.14 $\mu\text{g/ml}$), a lactone compound, cytochalasin with activity against KB cell (IC_{50} 0.13 $\mu\text{g/ml}$), rhizoctonic acid derivative and 3 pure compounds. These compounds have been under investigation to confirm the chemical structures. Gspe 11, another mycelia sterilia, was classified in family Diatrypaceae, order Xylariales. Crude extract from Gspe 11 culture broth showed activities against KB cell (IC_{50} 1.8 $\mu\text{g/ml}$), BC cell (IC_{50} 1.4 $\mu\text{g/ml}$), NCI-H187 cell (IC_{50} 4.48 $\mu\text{g/ml}$) and Vero cell (IC_{50}

3.7 $\mu\text{g/ml}$). The chemical structures of three pure compounds, isolated from the crude extract, have been under investigation.