

บทคัดย่อ

จากที่มีการพบว่าลำดับเบสระหว่างยีนในมนุษย์และยีนในยีสต์มีความเหมือนกันอยู่สูง และมีการใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์ของยีสต์เข้ามาช่วยในการศึกษากระบวนการในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ทำให้ยีสต์ *S. cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์หนึ่งที่มีบทบาทในการค้นหาใหม่ ๆ วิธีการส่งสัญญาณของแคลเซียมในเซลล์มีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการทางชีวภาพต่าง ๆ มากมายในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ยีสต์สายพันธุ์กลายหนึ่งที่ขาดยีน *ZDS1* (*zds1Δ*) ไม่สามารถเจริญได้เมื่อถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมสูง (150 มิลลิโมลาร์) อันเป็นผลมาจากวัฏจักรการแบ่งเซลล์ได้หยุดอยู่ที่ระยะ G2 จากลักษณะการเจริญที่มีเงื่อนไขดังกล่าว ทำให้ยีสต์ *zds1Δ* ถูกนำมาใช้ในระบบคัดกรองสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กซึ่งสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งวิธีการส่งสัญญาณของแคลเซียมที่มีผลต่อการควบคุมการแบ่งเซลล์ในการศึกษานี้ได้ใช้ระบบคัดกรองที่ใช้ยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวเพื่อคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญาณของแคลเซียมจากพืชสมุนไพรไทย จากการทดสอบสารสกัดอย่างหยาบจำนวน 143 ตัวอย่างพบสารสกัด 3 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกในระบบคัดกรองดังกล่าวได้แก่สารสกัดอย่างหยาบจากฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) กระชายเหลือง (*Boesenbergia pandurata*) และกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) เฉพาะสารสกัดอย่างหยาบจากกระชายเหลืองได้ถูกเลือกมาศึกษาต่อ โดยสารสกัดอย่างหยาบถูกแยกเป็นส่วนย่อยและทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคโครมาโตกราฟี และใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง ร่วมกับระบบการทดสอบในยีสต์เพื่อติดตามฤทธิ์ สามารถแยกได้สารบริสุทธิ์ 3 ชนิด ได้แก่ pinostrobin, alpinetin และ pinocembrin, chalcone จากการทดสอบในระบบยีสต์พบว่า pinostrobin มีฤทธิ์ทางชีวภาพแรงที่สุด เมื่อเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *zds1Δ* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pinostrobin อยู่ก่อนที่จะนำเซลล์ดังกล่าวไปกระตุ้นวิธีการส่งสัญญาณของแคลเซียม พบว่า pinostrobin สามารถยับยั้งการหยุดการแบ่งเซลล์ที่ระยะ G2 ของเซลล์ยีสต์ *zds1Δ* ได้จากการใช้วิธีโฟลว์ไซโตเมทรี (flow cytometry) เพื่อติดตามระยะการแบ่งเซลล์ นอกจากนี้ pinostrobin ยังยับยั้งเซลล์ดังกล่าวในการเกิดรูปร่างที่ผิดปกติเมื่อแตกหน่อและการแบ่งนิวเคลียสที่ผิดปกติได้ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสาร pinostrobin จากกระชายเหลืองมีฤทธิ์ยับยั้งวิธีการส่งสัญญาณของแคลเซียมในยีสต์

Abstract

Because of the high degree of gene conservation between humans and yeast, the rapid progress in molecular biology and the powerful of classical yeast genetics render the yeast *S. cerevisiae* to be a fascinating organism in drug discovery. Calcium (Ca^{2+}) signaling pathway is involved in regulation of diverse biological processes in eukaryotes. A mutant yeast strain, *zds1* Δ , grown in high Ca^{2+} containing medium exhibits a severe growth defect through the inhibition of the cell-cycle at G2 phase. Based on such phenotype observed, a novel drug screening system to detect small molecule inhibitors of Ca^{2+} -dependent cell-cycle regulation was purposed. This study aimed to employ such yeast-based assay to screen Thai medicinal plants, a rich resource of bioactive compounds, for small molecule Ca^{2+} signal inhibitors. Three out of 143 crude ethanol extracts, that is *Andrographis paniculata*, *Boesenbergia pandurata* and *Kaempferia parviflora*, showed positive results in the screens. A crude extract of *B. pandurata* was fractionated and purified using column chromatographic techniques and TLC. The biological activity of each column was monitored by the yeast based assay. Three isolated compounds were purified and characterized by nuclear magnetic resonance spectroscopy as pinostrobin, alpinetin and pinocembrin chalcone. Pinostrobin shows the highest biological activity among the three. The pinostrobin-treated yeast cells could alleviate the abnormal morphology and abnormal nuclear division of the budding cells suffering from Ca^{2+} -induced G2 phase cell-cycle arrest as confirmed by flow cytometry (FACS) profile. This study showed that pinostrobin from *B. Pandurata* contains inhibitory activity on the Ca^{2+} signal in the yeast, *S. cerevisiae*.