บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG4780143

ชื่อโครงการ : โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเน้นศักยภาพฤทธิ์ต้านมะเร็งจากพรรณพืชในประเทศไทย

ชื่อผู้วิจัย ผศ.ดร.ชวลิต สิทธิสมบัติ
ศ.ดร.วิชัย ริ้วตระกูล[1]
ศ.ดร.มนัส พรหมโคตร[1]
Prof. Dr. François TILLEQUIN[2]
Prof. Dr. Sylvie MICHEL[2]

หน่วยงานที่สังกัด คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
[1]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
[2]Faculté de Pharmacie Universite René Descartes- Paris 5, France

เบอร์อีเมล : chavalit@su.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2547-2553

จากวัตถุประสงค์ของโครงการเพื่อทำการสำรวจทางพฤกษเคมีและทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งในหลอดทดลองของพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) และพืชวงศ์ยาง (Dipterocarpaceae) โดยเน้นการศึกษาในพืชบางสกุลบางชนิด และสกัดแยกสารที่มีฤทธิ์นั้น ได้ทำการเก็บ รวบรวม พร้อมทั้งตรวจสอบชนิดของพืชทั้งสองวงศ์จำนวน 11 ชนิด ประกอบด้วย พืชวงศ์ยาง ได้แก่ ยางแดง (*Dipterocarpus turbinatus*), ยางปาย (*D. costatus*), ตะเคียนทอง (*Hopea odorata*) และ พะยอม (*Shorea roxburghii*) และพืชวงศ์ส้ม ได้แก่ มะกรูด (*Citrus hystrix*) กะอวม *(Acronychia pedunculata*), มะนาวผี (*Atalantia monophylla*), ประยงค์ขนบาง (*Glycosmis puberula* var *crabii*), ช้างงาเดียว (*Luvunga scandens*), เพี้ยกระทิง *(Melicope pteleifolia*) และ *Micromelum hirsutum* นำส่วนของพืชอย่างน้อย 3 ส่วนคือ เนื้อไม้ เปลือกต้น และใบ ส่วนของพืชนำมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเป็นเฮกเซนและเอธานอล การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งในหลอดทดลองใช้เซลล์มะเร็ง 6 ชนิดคือ Murine lymphocytic leukemia (P-388), human nasopharyngeal carcinoma (KB), human colon cancer (Col-2), human breast cancer (MCF-7), human lung cancer (Lu-1) และ rat glioma (ASK) ผลการทดสอบพบว่า มีสารสกัดจากพืช 3 ชนิดของพืชวงศ์ยาง ได้แก่ ยางแดง (*D. turbinatus*), ยางปาย (*D. costatus*), และตะเคียนทอง (*H. odorata*) และสารสกัดจากพืช 2 ชนิดของพืชวงศ์ส้ม ได้แก่ ประยงค์

ขนบาง (*G. puberula* var. *crabii*) และช้างงาเดียว (*L. scandens*) ที่มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 20 µg/ml

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดเฮกเซนจากส่วนเนื้อไม้ของยางปาย (*D. costatus*) พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์กว้างขวางต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิดยกเว้นเซลล์ ASK นับเป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์สูงสุดโดยมีค่า ED_{50} = 4.03 µg/ml ต่อเซลล์ P-388 ตะเคียนทอง (*H. odorata*) ซึ่งเป็นพืชที่มีประโยชน์ทางยาใช้สำหรับการสมานแผลนั้นพบว่า สารสกัดเอธานอลจากส่วนเนื้อไม้มีฤทธิ์ต้านมะเร็งต่อเซลล์ Lu-1 (ED_{50} = 15.18 µg/ml) สารสกัดเอธานอลจากส่วนใบมีฤทธิ์ต้านมะเร็งต่อเซลล์ P-388 (ED_{50} = 6.79 µg/ml) นับเป็นรายงานครั้งแรกของการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของพืชวงศ์ยางในประเทศไทยต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด การศึกษาเบื้องต้นทางพฤกษเคมีพบว่าสารที่มีฤทธิ์น่าจะเป็นสารประกอบกลุ่ม terpenoids เมื่อนำส่วนเนื้อไม้ของยางปายมาสกัดแยกหาองค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี column chromatography พบสาร CHA008 ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายสาร β-amyrin ที่จัดอยู่ในกลุ่ม terpenoids สารมีฤทธิ์กว้างขวางต่อเซลล์มะเร็งโดยเฉพาะฤทธิ์ต่อเซลล์ KB

จากพืชวงศ์ส้ม สารสกัดเฮกเซนจากส่วนใบและดอกของประยงค์ขนบาง (*G. puberula* var. *crabii*), และสารสกัดจากส่วนใบของช้างงาเดียว (*L. scandens*) มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง (ED_{50} = 5.28-19.44 µg/ml) สารสกัดเฮกเซนจากส่วนดอกของประยงค์ขนบางและจากส่วนใบของช้างงาเดียวนั้นมีฤทธิ์ค่อนข้างกว้างขวาง มีฤทธิ์สูงต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 (ED_{50} = 5.28-8.07 µg/ml) และยังมีฤทธิ์ต่อเซลล์ ASK ต้นมะกรูดแม้ว่าจะไม่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของส่วนรากต้นมะกรูดโดยสกัดแยกด้วยวิธี column chromatography สามารถแยกสารประกอบกลุ่ม coumarins ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของสารสกัดได้ 2 ชนิดคือ seselin และ xanthyletin นอกจากนั้นการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี GC-MS ทำให้พบสารประกอบกลุ่ม coumarins อีก 2 ชนิด คือ 6,7-dimethylesculin และ suberosin การศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารเหล่านี้พบว่ามีฤทธิ์ที่น่าสนใจหลายประการ เช่น พบว่าสาร seselin ซึ่งเป็นสารหลักในรากมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งและต้านเชื้อไวรัสเอชไอวี การพัฒนาปรับปรุงโครงสร้างทางเคมีของสารนี้น่าจะนำไปสู่สารที่มีฤทธิ์สูงขึ้น

กุญแจคำ: ฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง พืชวงศ์ส้ม พืชวงศ์ยาง เทอร์พีนอยด์ คูมารินส์

Abstract

Project Code : MRG4780143

Research Title : Research and development of bioactive compounds with anticancer potential from plants in Thailand

Researcher : Assist. Prof. Dr. CHAVALIT SITTISOMBUT
Prof. Dr. VICHAI REUTRAKUL[1]
Prof. Dr. MANAT POHMAKOT[1]
Prof. Dr. FRANCOIS TILLEQUIN[2]
Prof. Dr. SYLVIE MICHEL[2]

Office Faculty of Pharmacy, Silpakorn University
[1]Faculty of Science, Mahidol University
[2]Faculté de Pharmacie, Universite René Descartes- Paris 5, France

Email Address : chavalit@su.ac.th

Project Period : 2547-2553

From the purpose of this study which is to investigate and evaluate the *in vitro* cytotoxic activity of plants in families of Rutaceae and Dipterocarpaceae, we collected 11 plants, *Dipterocarpus turbinatus*, *D. costatus*, *Hopea odorata*, *Shorea roxburghii*, *Citrus hystrix*, *Acronychia pedunculata*, *Atalantia monophylla*, *Glycosmis puberula* var. *crabii*, *Luvunga scandens*, *Melicope pteleifolia* and *Micromelum hirsutum*. Plant parts (at least, woods, barks and leaves) were extracted with hexane and ethanol respectively and tested, *in vitro*, with 6 cancer cell lines, murine lymphocytic leukemia (P-388), human nasopharyngeal carcinoma (KB), human colon cancer (Col-2), human breast cancer (MCF-7), human lung cancer (Lu-1) and rat glioma (ASK). It has been found that extracts from *D. turbinatus*, *D. costatus*, *H. odorata*, *G. puberula* var. *crabii*, and *L. scandens* were cytotoxic against cancer cells at concentration less than 20 µg/ml.

The hexane extract of the wood of *D. costatus* had braod spectrum of cytotoxic activity against various cells, except the ASK, and was the highest cytotoxicity with the ED_{50} = 4.03 µg/ml against the P-388. The ethanol extract of the wood of *H. odorata* is active against Lu-1

with the ED_{50} = 15.18 µg/ml while the leaf extract was cytotoxic against P-388 (ED_{50} = 6.79 µg/ml). It is the first time that cytotoxic activity of dipterocarpaceous plants was performed against various cancer cells *in vitro*. The preliminary phytochemical study indicated that active extracts contained terpenoids. In the isolation of the wood of *D. costatus* by column chromatography a substance called 'CHA008' with chemical structure closed to β-amyrin, a terpenoid, was obtained. This substance had broad spectrum of cytotoxicity, especially against KB cells.

From rutaceous plants, the hexane extract of leaves and flowers of *G. puberula* var. *crabii* and leaf extract of *L. scandens* were cytotoxic (ED_{50} = 5.28-19.44 µg/ml). The hexane extract of flowers of *G. puberula* var. *crabii* and leaf extract of *L. scandens* had broad spectrum of cytotoxicity, were active against MCF-7 (ED_{50} = 5.28-8.07 µg/ml) and active against the ASK. Though extracts of the *C. hystrix* were inactive to the tested cancer cells, we isolated two coumarins, seselin and xanthyletin, from the root bark. By using the GC-MS we could also identify two additional coumarins, 6,7-dimethylesculin and suberosin. These known coumarins were reported that possessed some interesting pharmacological activities. We have confirmed the cytotoxic and anti-HIV activities of seselin. These compounds have potential for drug discovery program as their chemical structures can be modified to obtain compounds with improved activity.

Key words: Cytotoxic activity, Rutaceae, Dipterocarpaceae, Terpenoids, Coumarins