

รหัสโครงการ: MRG4780172

ชื่อโครงการ: สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากใบเปล้าน้อย

ชื่อนักวิจัย: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรัชย์ พรภคกุล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: psuracha@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 กรกฎาคม 2547 ถึง 30 มิถุนายน 2549

ราเอ็นโดไฟท์เป็นจุลชีพที่บางส่วนของวงชีวิตหรือทั้งวงชีวิตอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชที่ให้อาศัยโดยอยู่ระหว่างหรือภายในเซลล์ซึ่งราจะไม่เป็นสาเหตุให้เกิดอาการของโรคพืชปรากฏ มีการรายงานว่ามีสารต้านมะเร็งหลายชนิด เช่น แทคซิแทกเซล (taxol[®]), สารปฏิชีวนะ, สารปฏิชีวนะระเหย, สารฆ่ารา, สารฆ่าวัชพืช, สารฆ่าสาหร่าย, สารกดภูมิคุ้มกัน, และสารฆ่าพยาธิตัวกลม สร้างขึ้นโดยราเอ็นโดไฟท์ด้วยเหตุนี้ ราเอ็นโดไฟท์จึงคาดหวังว่าเป็นแหล่งสำคัญสำหรับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากธรรมชาติชนิดใหม่ที่น่าสนใจเพื่อการพัฒนาและที่เป็นเครื่องมือในการวิจัย ดังนั้นวัตถุประสงค์นี้ก็เพื่อแยกราเอ็นโดไฟท์จากใบเปล้าน้อย *C. roton sublyratus* เพื่อศึกษาการสร้างเปลาโนทอลจากราเอ็นโดไฟท์ เพื่อแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างจากราเอ็นโดไฟท์และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเหล่านั้น การแยกราเอ็นโดไฟท์จากใบเปล้าน้อยที่เก็บจากนครปฐม ลพบุรีและกรุงเทพฯ โดยอาศัยเทคนิคการทำให้ปลอดเชื้อที่พื้นผิวได้ราเอ็นโดไฟท์ 20, 50 และ 16 ไอโซเลต ตามลำดับ ราเหล่านี้มาศึกษาการสร้างเปลาโนทอลและการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยใช้วิธี dual culture diffusion พบว่าราทั้งหมดไม่สร้างเปลาโนทอลและมีเพียงสี่ไอโซเลตเท่านั้นที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพอย่างอ่อน จากการพิจารณาการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยการวิเคราะห์ ¹H NMR ของเมแทบอไลต์ของราที่สร้าง จึงเลือกได้สามไอโซเลตเพื่อการศึกษาเพิ่มเติม ราเอ็นโดไฟท์ BKK3 วิเคราะห์ได้ว่าเป็นรา *Diaporthe* sp. ชนิดที่เป็นเส้นใย แยกได้สารยับยั้ง CYP3A4 ชนิดใหม่, phomopsichalasin B, รวมทั้ง pycnidione จากเส้นใยของรานี้ ทำการวิเคราะห์โครงสร้างสารเหล่านี้โดยอาศัยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีและโครงสร้าง phomopsichalasin B ยืนยันโดยการวิเคราะห์ด้วยเอกซ์-เรย์คริสตัลโลกราฟี Phomopsichalasin B และ pycnidione มีฤทธิ์การยับยั้ง CYP3A4 ด้วย IC₅₀ 0.626 μM and 465 μM, ตามลำดับ

คำหลัก: endophyte, endophytic fungi, metabolites, bioactive compounds

Project Code: MRG4780172
Project Title: Bioactive compounds from endophytic fungi isolated from *Croton sublyratus* leaves
Investigator: Assistant Professor Surachai Pornpakakul, PhD
Chulalongkorn University
E-mail Address: psuracha@chula.ac.th
Project Period: 1 July 2004 to 30 June 2006

Endophytic fungi are microorganisms which spend the whole or part of its life cycle colonizing inter- and/or intra-cellularly inside the healthy tissues of the host plant causing no appearance of disease symptoms. There are documents demonstrating that many antitumor agents, such as paclitaxel (taxol[®]), antibiotics, *volatile antibiotics*, fungicidal, herbicidal, algicidal, immunosuppressive compounds, and nematocidals could be produced by endophytic fungi. Thus, the endophytic fungi are expected to be a potential source for new natural bioactive agents used for the development of drugs and as research tools. Therefore, the objectives of this research were to isolate endophytic fungi from *Croton sublyratus* leaves, to investigate plaunotol production from the endophytic fungi, to isolate bioactive compounds produced from the endophytic fungi and investigate their activities. Isolation of endophytic fungi from the leaves of *Croton sublyratus*, collected from Nakhonpathom, Lopburi and Bangkok, using surface-sterilization technique gave 20, 50 and 16 isolates of endophytic fungi, respectively. These fungi were investigated for production of plaunotol and anti-microbial activity against *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Candida albicans* ATCC 10231 using dual culture diffusion method. It found that all fungi produced no plaunotol and only four isolates exhibited weak antimicrobial activity. ¹H NMR analysis of their metabolites was considered for production of bioactive compounds and three isolates were selected for further investigation. The endophytic fungus isolate BKK3 was identified as the filamentous fungus *Diaporthe* sp. A novel CYP3A4 Inhibitor, phomopsichalasin B, together with pycnidione were isolated from the mycelia of this fungus. Their structures were elucidated on the basis of spectral data and the structure of phomopsichalasin B was confirmed by X-ray crystallographic analysis. Phomopsichalasin B and pycnidione exhibited CYP3A4 Inhibition with IC₅₀ 0.626 μ M and 465 μ M, respectively.