

## ABSTRACT

*Albizia myriophylla* Benth has been used for long by Thai traditional healers as an important ingredient herb in Thai herbal formulas for treating toothache caused by dental caries. In this study, five flavonoids 3,4,7,3'-tetrahydroxyflavan (1), 7,3',4'-trihydroxyflavanone (2), 8-methoxy-7,3',4'-trihydroxyflavone (3), 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavone (4), lupinifolin (5), a triterpenoid lupeol (6) as well as two set of mixtures belonging to the class of sterols including a mixture of  $\beta$ -sitosterone (7) and stigmasta-5,22-dien-3-one (8) and a mixture of  $\beta$ -sitosterol (9) and stigmasterol (10) were isolated from the wood of this plant species. The structures of all these compounds were determined by extensive spectroscopic studies, including comparisons of their UV, IR, MS, and NMR data with those previously reported. Some of the isolated compounds, particularly those belonging to flavonoid group were evaluated for their antibacterial activity against *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Bacillus cereus* ATCC 11778, and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 using broth microdilution method as well as cytotoxicity against oral cavity cancer (KB) cell line using resazurin microplate assay. All the tested compounds, except for compounds 1 and 2, exhibited antibacterial activity against *S. mutans* ATCC 25175 with minimum inhibitory concentration (MIC) ranging from 1–250  $\mu\text{g/ml}$ . Among the compounds tested, lupinifolin (5) showed the most potent anti-*S. mutans* activity with MIC of 0.98  $\mu\text{g/ml}$  comparable with the reference standard chlorhexidine with MIC of 0.5  $\mu\text{g/ml}$ . Compound 5 also displayed marked antibacterial activity against *B. cereus* ATCC 11778 and *S. aureus* ATCC 29213 with the same MIC of 15.6  $\mu\text{g/ml}$ . Compounds 3 and 4 showed moderate activity against the three tested bacterial strains with MIC values ranging from 62.5–250  $\mu\text{g/ml}$ , whereas compounds 1 and 2 exhibited no antibacterial activity against the tested pathogens at the highest concentration tested of 250  $\mu\text{g/ml}$ . Regarding the cytotoxicity, lupinifolin (5) was found to have potent anticancer activity against KB cell with  $\text{IC}_{50}$  of 4.9  $\mu\text{g/ml}$ , whereas the other tested compounds at the highest concentration of 50  $\mu\text{g/ml}$  did not exert cytotoxic effect against cancer cell tested. These findings demonstrate the bioactive ingredients of *A. myriophylla* and thus support its ethnomedical claims as well. Compounds 1–5 were reported herein from the genus *Albizia* for the first time. Compounds 6–8 were firstly isolated in this study from the wood of *A. myriophylla*. Lupinifolin (5) may have a potential to be a natural anticariogenic agent. Further research is necessary to establish the antibacterial mechanisms of action of this compound against *S. mutans* or other cariogenic bacterial strains.

**Keywords:** *Albizia myriophylla*, Cytotoxicity, Dental caries, Medicinal plant, *Streptococcus mutans*

## บทคัดย่อ

*Albizia myriophylla* Benth ได้ถูกใช้มาเป็นเวลานานโดยหมอพื้นบ้านไทย ในการเป็นพืชสมุนไพรองค์ประกอบที่สำคัญในตำรับยาสมุนไพรไทยสำหรับการรักษาอาการปวดฟันที่เกิดจากโรคฟันผุ ในการศึกษาครั้งนี้ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 5 ชนิด ได้แก่ 3,4,7,3'-tetrahydroxyflavan (1), 7,3',4'-trihydroxyflavanone (2), 8-methoxy-7,3',4'-trihydroxyflavone (3), 7,8,3',4'-tetrahydroxyflavone (4) และ lupinifolin (5) สารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ 1 ชนิด คือ lupeol (6) ตลอดจนสารผสม 2 ชนิด ในกลุ่มสเตอรอยด์ คือ สารผสมของ  $\beta$ -sitosterone (7) และ stigmasta-5,22-dien-3-one (8) และ สารผสมของ  $\beta$ -sitosterol (9) และ stigmasterol (10) ได้ถูกแยกจากเนื้อไม้ของพืชชนิดนี้ การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารเหล่านี้ได้ใช้เทคนิคทางด้านสเปกโทรสโกปี รวมถึงการเปรียบเทียบข้อมูลของ UV, IR, MS และ NMR กับข้อมูลที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้ บางส่วนของสารที่แยกได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่อยู่ในกลุ่ม flavonoids ได้ถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Bacillus cereus* ATCC 11778 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 โดยใช้วิธี broth microdilution ตลอดจนศึกษาฤทธิ์เป็นพืชต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB cell) โดยใช้วิธี resazurin microplate assay สารทั้งหมดที่ทดสอบยกเว้นสารที่ 1 และ 2 แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ในช่วง 1-250  $\mu\text{g/ml}$  ในบรรดาสารทดสอบ lupinifolin (5) มีฤทธิ์ต้าน *S. mutans* ATCC 25175 ที่มีศักยภาพมากที่สุด โดยมีค่า MIC 0.98  $\mu\text{g/ml}$  เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน chlorhexidine ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 0.5  $\mu\text{g/ml}$  สาร 5 ยังแสดงฤทธิ์ที่ดีในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* ATCC 11778 และ *S. aureus* ATCC 29213 โดยมีค่า MIC เท่ากับ 15.6  $\mu\text{g/ml}$  สารประกอบที่ 3 และ 4 แสดงฤทธิ์ระดับปานกลางต่อเชื้อแบคทีเรียสามชนิดที่ใช้ทดสอบ ด้วยค่า MIC ในช่วง 62.5-250  $\mu\text{g/ml}$  ในขณะที่สาร 1 และ 2 ที่ความเข้มข้นสูงสุดในการทดสอบเท่ากับ 250  $\mu\text{g/ml}$  ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ จากการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษ พบว่าสาร lupinifolin (5) ออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง KB โดยมีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ 4.9  $\mu\text{g/ml}$  ในขณะที่สารทดสอบอื่น ๆ ที่ความเข้มข้นสูงสุด 50  $\mu\text{g/ml}$  ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ใช้ทดสอบ การค้นพบนี้แสดงให้เห็นถึงสารองค์ประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *A. myriophylla* และยังสนับสนุนข้อมูลการใช้ทางการแพทย์พื้นบ้านของพืชชนิดนี้อีกด้วย การศึกษาครั้งนี้ได้รายงานการแยกสาร 1-5 จากพืชในสกุล *Albizia* เป็นครั้งแรก สารประกอบ 6-8 ได้ถูกแยกจากเนื้อไม้ของ *A. myriophylla* ในการศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรก สาร lupinifolin (5) อาจมีศักยภาพที่จะเป็นสารต้านฟันผุจากธรรมชาติ การวิจัยเกี่ยวกับกลไกของสารชนิดนี้ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* หรือเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ที่ก่อโรคฟันผุ เป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องดำเนินการต่อไป

คำหลัก: ไซเอมไทย ฤทธิ์เป็นพืชต่อเซลล์ ฟันผุ พืชสมุนไพร เชื้อ *Streptococcus mutans*