

Abstract

Since the inhibition of “bioactivating” Phase-I xenobiotic metabolizing enzymes (XMEs) (predominantly Cytochrome P450; CYP) and /or induction of “detoxifying” Phase-II XMEs have been long considered important cancer chemopreventive strategies. Many carcinogens are metabolized by CYP to chemically reactive electrophilic metabolites that bind to cell membrane, protein, DNA or RNA producing carcinogenicity. In the current study, the effect of 6 Thai fruit extracts (Mango;MG, Pomelo;PM, Papaya;PY, Mangosteen;MT, Orange;OR and Pineapple;PA) on rat cytochrome P450 (CYP) activities was examined in *in vitro* system. The potential for inhibition of CYP1A2, CYP2B1, CYP2E1 and CYP3A1 by Thai fruit extracts (0.001-50 mg/mL) was evaluated with pooled rat liver microsomes and rat hepatocyte cultures. Furthermore, the potential for induction of UGT1A1 and SULT2A1 was also evaluated with rat hepatocyte cultures. Fruit extracts exhibited minimal capacity to inhibit any CYP enzyme, compare to the reference inhibitors. PY, PM, MT and OR inhibited the O-deethylation of 7-ethoxyresorufin, a marker substrate for CYP1A2 with IC_{50} value of 1.8, 7.9, 25.7 and 28.5 mg/mL in rat liver microsomes, respectively. PY, PM, MT, MG and PA also inhibited the O-deethylation of benzyloxyresorufin (CYP2B1) in rat microsomes with IC_{50} value between 1.4 to 15.7 mg/mL. PM, PY, PA, OR and MT also strongly inhibited the hydroxylation of p-nitrophenol (CYP2E1) with IC_{50} value between 0.0012 to 2.1 mg/mL. PA and PY were found to be a weak inhibitor of CYP3A1 with IC_{50} value of 0.25 and 0.93 mg/mL, respectively.

The potential for inhibition/induction of CYP activity was evaluated by exposing primary cultured of rat hepatocytes to Thai fruit extracts (0.1-2.0 mg/mL). Enzymatic activities were performed by the direct incubation of hepatocyte suspension with the specific substrates of each CYP. The mean activities of CYP1A2, CYP2B1, CYP2E1, CYP3A1, UGT1A1 and SULT2A1 from fruit extract-treated hepatocytes were slightly lower than those in the solvent-treated controls but were less than those produced by reference inhibitors of these enzymes. In summary, PM and PY has been demonstrated *in vitro* to be a low potent of CYP1A2, both in rat liver microsomes and *in vitro* in rat hepatocytes. Most of all fruit extract (at the dose of 1-2 mg/mL) inhibited the activity of CYP2B1. At 1-2 mg/mL of PY, the activity of CYP2E1 was decreased relative to the control. CYP3A1, UGT1A1 and SULT2A1 activities were unchanging except PY at the dose of 1-2 mg/mL was slightly increase in activity of UGT1A1. These data indicate that XMEs are altering by some Thai fruit extracts in *in vitro* system (by using liver microsomes and rat hepatocytes) and resulting in the decreased carcinogenicity of xenobiotics. Further study is ongoing to assess the alteration of Thai fruit extract on XMEs after *in vivo* administration to rats.

บทคัดย่อ

การยับยั้งขบวนการ bioactivating ของเอนไซม์ในกลุ่มที่เรียกว่า xenobiotic metabolizing enzymes (XMEs) ในขั้นตอนที่ 1 ซึ่งส่วนใหญ่คือเอนไซม์ไซโตโครม (Cytochrome P450; CYP) และ/หรือ การเหนี่ยวนำการกำจัดออกของสารในขั้นตอนที่ 2 หรือที่เรียกว่า detoxifying เป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายว่ามีความสำคัญในแง่การป้องกันการเกิดมะเร็ง เนื่องจากการยับยั้งหรือการเหนี่ยวนำดังกล่าวจะไปช่วยลดการสร้างสารตัวกลางที่ชอบอิเล็กตรอน (electrophilic intermediates) ซึ่งสามารถทำอันตรายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีน สารพันธุกรรมดีเอ็นเอ หรืออาร์เอ็นเอ จนนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ปกติเป็นเซลล์มะเร็งได้ การศึกษาผลของสารสกัดผลไม้ไทย 6 ชนิด ได้แก่ มะม่วง ส้มโอ มะละกอ มังคุด ส้ม และสับปะรด ต่อความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซโตโครมในตับ (CYP1A2, 2B1, 2E1 และ 3A1) วัดโดยใช้การ incubate กับสารตั้งต้นที่จำเพาะในแต่ละกลุ่มย่อยของเอนไซม์โดยมีไมโครโซมและเซลล์ตับเพาะเลี้ยงเป็นแหล่งของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังทำการทดลองเพื่อวัดผลของสารสกัดผลไม้ต่อความสามารถในการเหนี่ยวนำการทำงานของเอนไซม์ใน phase II ได้แก่ เอนไซม์ UGT1A1 และ SULT2A1 อีกด้วย สารสกัดผลไม้มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซโตโครม โดยเฉพาะสารสกัดมะละกอและสับปะรด อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับสารยับยั้งมาตรฐาน พบว่าสารสกัดผลไม้จัดเป็นสารยับยั้งอ่อน ในเซลล์ตับเพาะเลี้ยงหนูพบว่า สารสกัดผลไม้บางชนิดเท่านั้นที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เช่น ส้มโอ มะละกอ มะม่วงและส้มลดการทำงานของเอนไซม์ CYP1A2 ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.8, 7.9, 25.7 และ 28.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดผลไม้เกือบทุกชนิดมีผลลดการทำงานของ CYP2E1 ในขณะที่สารสกัดผลไม้ส่วนใหญ่ไม่มีผลต่อ CYP3A1 ยกเว้นสับปะรดและมะละกอแสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.25 และ 0.93 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

ในการทดลองเพื่อประเมินความสามารถในการยับยั้งหรือเหนี่ยวนำเอนไซม์โดยใช้เซลล์ตับเพาะเลี้ยงหนูทำโดยการ incubate สารตั้งต้นกับสารสกัดผลไม้ในขนาด 0.1 ถึง 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด พบว่าสารสกัดผลไม้มีผลต่อเอนไซม์ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานโดยสรุปพบว่า ส้มโอและมะละกอลดการทำงานของ CYP1A2 สารสกัดผลไม้เกือบทุกชนิดมีผลลดการทำงานของ CYP2B1 มะละกอลดการทำงานของ CYP2E1 สารสกัดผลไม้ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ CYP3A1, UGT1A1 และ SULT2A1 ยกเว้นมะละกอที่ขนาด 1-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถเพิ่มการทำงานของ UGT1A1 ได้

จากผลดังกล่าวบ่งชี้ว่า สารสกัดผลไม้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ตับในบางเอนไซม์ ทำให้มีโอกาสลดการเกิดสารก่อมะเร็ง (carcinogenicity) ที่อาศัยเอนไซม์ดังกล่าวในปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงจาก procarcinogen เป็น carcinogen อย่างไรก็ตามเพื่อยืนยันผลของสารสกัดผลไม้ต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว การทำการทดลองในหนู (in vivo study) โดยการป้อนสารสกัดผลไม้ทางปากจะช่วยให้ได้คำตอบที่กระจ่างชัดขึ้น