

รหัสโครงการ MRG4580016

**ชื่อโครงการ** การตรวจหาสารประกอบที่มีฤทธิ์ต่อต้านหนอนพยาธิ และเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นใน 2 วงศ์ คือ Annonaceae และ Rubiaceae

**ชื่อนักวิจัยและสถาบัน** ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**e-mail address** weerah@chiangmai.ac.th

**ระยะเวลาโครงการ** 2 ปี

การค้นหารายการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อต้านหนอนพยาธิ หรือเซลล์มะเร็งตัวใหม่ เป็นเรื่องจำเป็นเร่งด่วน เนื่องจากมีแนวโน้มของการดื้อยา ที่มีตัวยาที่ออกฤทธิ์อย่างได้ผลในปัจจุบันไม่มากนัก ประกอบกับตัวยาต่อต้านหนอนพยาธิส่วนใหญ่หรือยารักษามะเร็งได้ก่อผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย และยังไม่มีการวิจัยด้านนี้อย่างจริงจังในประเทศไทย ทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นเป็นเป้าหมายและวัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยนี้ ที่จะริเริ่มให้มีห้องปฏิบัติการที่มีมาตรฐานขึ้นในคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้เลือกหนอนสองชนิดที่ใช้งานได้ดีในห้องปฏิบัติการคือ หนอนตัวกลม *Caenorhabditis elegans* และ *cercaria* ของพยาธิใบไม้เลือด *Schistosoma mansoni* ได้เลือกใช้เซลล์มะเร็ง 2 เซลล์สายพันธุ์ของคน คือ MCF-7 (มะเร็งเต้านม) และ HeLa (มะเร็งปากมดลูก) และเซลล์สายพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของคนมาใช้อีกหนึ่งชนิดคือ AMC-K46 เป็นเซลล์น้ำคร่ำ นอกจากนี้ยังใช้เซลล์ปกติ (เซลล์ปฐมภูมิ) ของตัวอ่อนหนูทดลองคือ M44 มาใช้ในการศึกษาความเจาะจงของการเลือกออกฤทธิ์นี้ด้วย มีการเก็บพืชจำนวน 15 สปีชีส์ มาจากสองวงศ์คือ Annonaceae และ Rubiaceae และนำมาสกัดด้วยเอทานอลหรือน้ำ หาค่า  $IC_{50}$  ของการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อหนอนและเซลล์สายพันธุ์โดยวิธีการ MTT assay หรือ SRB assay พบว่ามีสารสกัด 3 ตัวอย่างจากผลอ่อนและใบพืชในวงศ์ Annonaceae ที่ออกฤทธิ์ได้ดีกว่า praziquantel และยังพบฤทธิ์ในการต่อต้านเซลล์มะเร็งจากสารสกัด 3 ตัวอย่างนี้ด้วย โดยออกฤทธิ์ได้ดีกว่า ellipticine คาดว่าสารออกฤทธิ์นี้คือ acetogenin ซึ่งมีผู้ศึกษาอย่างกว้างขวาง แต่ยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาในผลอ่อนของพืชกลุ่มนี้ ได้ทำการเลือกสารสกัดที่ออกฤทธิ์ดีในการต่อต้านเซลล์มะเร็งจากพืช 3 สปีชีส์ คือ *Annona reticulate* (ผลอ่อน), *Annona squamosa* (ผลอ่อน) และ *Melodorum fruticosum* (ใบ) ในการทดสอบทางด้านพิษวิทยาในเซลล์ AMC-K46 พบว่าสารสกัดจาก 2 ตัวอย่างแรกมีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งเซลล์ และพบความผิดปกติของโครโมโซมแบบต่างๆในเซลล์ที่ได้รับสารสกัดอีกด้วย แต่เซลล์เหล่านี้มีจำนวนมากกว่าเซลล์ในกลุ่มที่ไม่ได้รับสารอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และมีร้อยละจำนวนความผิดปกติต่ำกว่าเซลล์ที่ได้รับยารักษามะเร็งมาตรฐานคือ mitomycin C อย่างเห็นได้ชัด สำหรับสารสกัดของพืช 2 สปีชีส์ในวงศ์ Rubiaceae คือ *Ixora lobbii* (ใบ) และ *Paederia foetida* (ต้น) แสดงฤทธิ์ที่ดีมาก และยังแสดงความเจาะจงสูงในการเลือกออกฤทธิ์ ต่อ *C. elegans* แต่สารสกัดทั้งหมดจากพืชวงศ์นี้ไม่ได้แสดงฤทธิ์ต่อต้านเซลล์มะเร็งเลย

**Project code :** MRG4580016

**Project Title :** Screening for Anthelmintic and Antitumor Compounds from the Indigenous Medicinal Member of the Two Plant Families, Annonaceae and Rubiaceae

**Investigator :** Assist. Prof. Dr. Weerah Wongkham, Dept. of Biology, Fac. Of Science, Chiang Mai University

**E-mail address :** weerah@chiangmai.ac.th

**Project period :** 2 years

Searches for new bioactive anthelmintic or antitumor compounds are urgently needed. There were evidences of anthelmintic compound resistance with few other effective choices. Most of the present anthelmintic or antitumor compound always exhibited side effect to the patient. There was almost no research of screening for the new anthelmintic compound in Thailand. With all the themes mentioned, the purposes and aims of this project were accordingly set for the initiation of the high standard laboratory in the Faculty of Science, Chiang Mai University. Two species of worm have been chosen due to their availability of life cycle in laboratory, the nematode *Caenorhabditis elegans* and the cercaria of blood fluke, *Schistosoma mansoni*. Two human cancer cell lines have been chosen, MCF-7 (breast cancer cells) and HeLa (cervical adenocarcinoma cells). The human amniocytic cell line with spontaneous mutation, AMC-K46, and the normal primary cells from laboratory mouse embryo, M44, was also used for the evaluation of the selective activity of the bioactive compounds. Fifteen species of plant from the two families, Annonaceae and Rubiaceae, were extracted using ethanol or aqueous. The  $IC_{50}$  of each extract was determined by the MTT assay or SRB assay on the worms and the cell lines. There were 3 extracts from young fruit and leaves of annonaceous plant expressed the anthelmintic activities against the worms, better than praziquantel. Antitumor activity was also observed and evaluated from the 3 extracts with the result better than that of ellipticine. Annonaceous acetogenins are thought to be the active compounds in this study, with enormously studies and revises. None of which has been referred to any extract from young fruit of the plant. The antitumor-extracts with highest activity from the 3 annonaceous plant were determined and used in genotoxicity assay to AMC-K46; *Annona reticulate* (young fruit), *Annona squamosa* (young fruit), and *Melodorum fruticosum* (leaves). The exposed-cells to the former two extracts were expressed the inhibition to the mitotic cell division with several types of chromosome aberration. These cells exhibited a non significant different in percentage of number to the control unexposed-cells, but clearly less than the cells exposed to mitomycin C. Extracts of the two species from Rubiaceae, *Ixora lobbii* (leaves) and *Paederia foetida* (stem) expressed very good activities with highly selective to inhibit *C. elegans*. All the extracts of the plant from this family showed none of the antitumor activity.