

## การแยกและการพิสูจน์ โครงสร้างสารจากต้นสังหยูดอกแดง

ชื่อโครงการ	การแยกและการพิสูจน์ โครงสร้างสารจากต้นสังหยูดอกแดง
ชื่อผู้ปฏิบัติ	นางสาวณัฐกานต์ อักษรักษ์
ชั้น	ปริญญาตรีปีที่ 1
สถาบัน	มหาวิทยาลัยมหิดล
นักวิทยาศาสตร์พี่เลี้ยง	รศ.ดร. ปทุมรัตน์ ผู้จินดา
สถาบัน	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล

### บทคัดย่อ

จากการศึกษาส่วน stem ของพืชใน genus *Polyalthia cinnamomea* หรือต้นสังหยูดอกแดง ซึ่งพบว่าส่วนสกัดเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งด้วยค่า  $ED_{50}$  8.04  $\mu\text{g/mL}$  ใน P-388, 10.93  $\mu\text{g/mL}$  ใน KB, 17.20  $\mu\text{g/mL}$  ใน Col-2, >20  $\mu\text{g/mL}$  ใน BCA-1, 15.07  $\mu\text{g/mL}$  ใน Lu-1 และ >20  $\mu\text{g/mL}$  ใน ASK และพบว่าไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อเอชไอวี-1 ได้นำส่วนสกัดเมทานอลมาทำการแยกเบื้องต้นโดยละลายใน 50% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน หลังจากทำการระเหยแห้งแล้วได้เป็นส่วนสกัดย่อย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ละลายใน 50% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน และส่วนที่ไม่ละลายใน 50% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน จากนั้นได้นำส่วนสกัดที่ละลายใน 50% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทนซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งมาทำการแยกสารองค์ประกอบโดยวิธีทาง chromatography สามารถแยกเป็นส่วนแยกย่อย (fractions) ได้ทั้งหมด 7 ส่วน และได้ทดสอบฤทธิ์ในส่วนแยกย่อยเหล่านั้น ได้ผลดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 จากนั้นได้ทำการตกผลึก fraction 2 พบว่าสามารถแยกสารได้ 1 ตัว คือ stigmasterol ได้ทำการพิสูจน์โครงสร้างสารโดยวิธีทาง spectroscopy และขณะนี้ได้พยายามทำการแยกสารจาก fractions 3 และ 4 ต่อ คาดว่าจะสามารถแยกสารได้ และจะได้นำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV-1 ต่อไป

### ความสำคัญและที่มาของโครงการ

ในปัจจุบันการศึกษาวิจัยทางด้านเคมีของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีการนำพืชสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ด้านการแพทย์ อุตสาหกรรมต่างๆ เป็นต้น ทำให้มีการพัฒนาตัวยาหรือสารเคมีที่มีอยู่ในปัจจุบันให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นและมีผลข้างเคียงน้อยที่สุด ตลอดจนนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ ซึ่งมีการพัฒนาตัวเองให้มีการคือยา รวมถึงโรคที่ยังไม่มีตัวยาที่มีประสิทธิภาพที่จะรักษาให้หายขาดหรือป้องกันได้ เช่น โรคมะเร็ง โรคเอดส์ เป็นต้น ซึ่งสาเหตุดังกล่าวข้างต้นทำให้ประชากรของโลกต้องประสบปัญหาเกี่ยวกับความทุกข์ทรมานจากโรคร้ายเป็นอย่างมาก ดังนั้น ข้าพเจ้าจึงได้จัดทำโครงการนี้ขึ้น เพื่อศึกษาและค้นคว้าหาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อนำมาเป็นสารต้นแบบในการพัฒนาศักยภาพของยาต่อไปได้ โดยในการทำโครงการครั้งนี้ ข้าพเจ้าได้นำส่วน stem ของพืชที่อยู่ใน genus *Polyalthia* คือ *Polyalthia cinnamomea* หรือต้นสังหยูดอกแดง มาทำการศึกษา โดยคาดหวังว่าจะพบสารองค์ประกอบที่แสดงฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งและต้านเชื้อเอชไอวี

## วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อสกัดแยกและพิสูจน์โครงสร้างของสารองค์ประกอบที่ได้จากต้น *Polyalthia cinnamomea* Hook.f. & Thomson ในส่วนของ stem

## วิธีการดำเนินการ

1. นำส่วน stem ของต้น *Polyalthia cinnamomea* มาบดและทำให้แห้ง
2. นำมา percolated โดยใช้ methanol แล้วนำส่วนที่สกัดได้ไประเหยเอา methanol ออก
3. จากนั้นนำมาแยกส่วนโดยละลายใน dichloromethane-methanol (1 : 1) แล้วค่อย ๆ รินส่วนละลายออก
4. นำส่วนที่ละลายไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator และต่อด้วย freeze dry
5. นำส่วนที่ไม่ละลายไป freeze dry เพื่อทำให้แห้ง
6. นำสารทั้ง 2 ส่วนที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
7. นำมาทำการแยกต่อ โดยใช้วิธี chromatography และ crystallization จนได้ pure compounds
8. พิสูจน์โครงสร้างของ pure compounds โดยเทคนิคทาง spectroscopy

## ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 แสดงค่า test activity ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งของ C-887-2-ST-E001 ใน fractions ต่าง ๆ

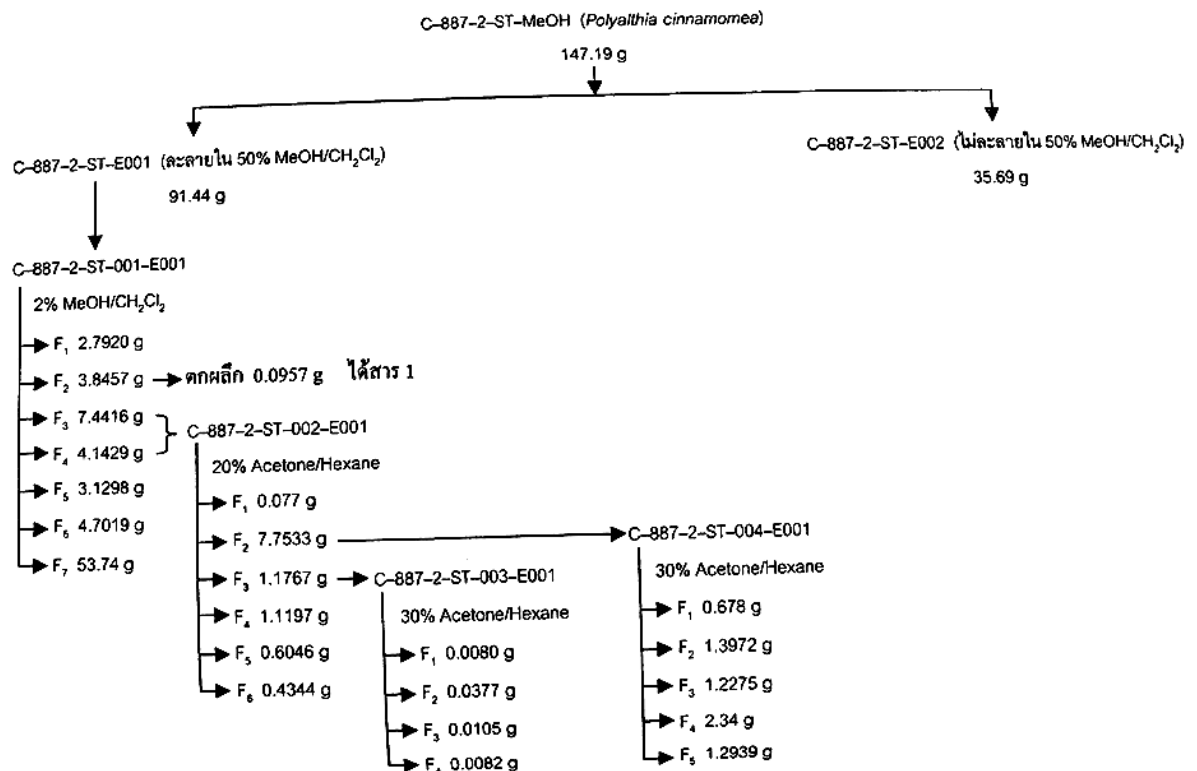
Extract/fraction	Cytotoxicity ED <sub>50</sub> (µg/mL)				
	P-388	KB	Col-1	BCA-1	Lu-1
MeOH extract	8.04	10.93	17.2	>20	15.07
50% MeOH-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (ละลาย)	<4	9.63	15.64	17.89	12.33
50% MeOH-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (ไม่ละลาย)	>20	>20	>20	>20	>20
C-887-2-ST-E001-F <sub>1</sub>	11.88	>20	>20	>20	>20
C-887-2-ST-E001-F <sub>2</sub>	>20	>20	>20	>20	>20
C-887-2-ST-E001-F <sub>3</sub>	<4	15.87	>20	>20	>20
C-887-2-ST-E001-F <sub>4</sub>	<4	<4	<4	<4	<4
C-887-2-ST-E001-F <sub>5</sub>	<4	7.83	16.01	11.57	10.11
C-887-2-ST-E001-F <sub>6</sub>	9.84	11.11	16.23	15.05	12.56
C-887-2-ST-E001-F <sub>7</sub>	>20	>20	>20	>20	>20

P-388: murine lymphocytic leukemia, KB: human oral nasopharyngeal carcinoma, Col-2: human colon cancer, MCF-7: human breast cancer, Lu-1: human lung cancer. For extract and fraction ED<sub>50</sub> < 20 µg/mL=active.

ตารางที่ 2 แสดงค่า test activity ในการต่อต้านเชื้อ HIV-1 ของ C-887-2-ST-E001 ใน fractions ต่าง ๆ

Extract/fraction	RT (% Inhibition)	Activity
MeOH	-8.46	I
50% MeOH-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (ละลาย)	23.43	I
50% MeOH-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (ไม่ละลาย)	-19.51	I
C-887-2-ST-E001-F <sub>1</sub>	22.44	I
C-887-2-ST-E001-F <sub>2</sub>	52.95	M
C-887-2-ST-E001-F <sub>3</sub>	73.24	VA
C-887-2-ST-E001-F <sub>4</sub>	75.84	VA
C-887-2-ST-E001-F <sub>5</sub>	61.73	M
C-887-2-ST-E001-F <sub>6</sub>	55.24	M
C-887-2-ST-E001-F <sub>7</sub>	13.88	I

I = inactive, M = moderately active, VA = very active



### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกสารจากส่วน stem ของต้นสังหยูดอกแดง ขณะนี้ได้สาร 1 ตัวจาก fraction 2 คือ stigmasterol ได้ ดำเนินการแยกสารจาก fractions 3 และ 4 ต่อ แต่ยังไม่สามารถแยกสารได้ เมื่อสามารถแยกสารได้แล้ว จะได้ส่งไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและต้านเชื้อเอชไอวี-1 ต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. Peter Forgo; Katalim E. Kover. *Steroids*, 2004, 69, 43.50
2. Chung-Yi Chen ; Fang-Rong Chang ; Yao-Ching Shih ; Tian-Jye Hsien. *Journal of Natural Products*, 2000, 63, 1475-1478.
3. Patoomratana Tuchinda ; Manat Pohmakotr ; ichai Reutrakul ; Wanpen Thanyachareon. *Planta Med*, 2001, 67, 572-575.
4. Potoomratana Tuchinda ; Manat Pohmakotr ; Bamroong Munyoo ; Vichai Reutrakul ; Thawatchai Santisuk. *Phytochemistry*, 2000, 53, 1079-1082.
5. Shaheen Faizi ; Rashid Ali Khan ; Soobia Azher ; Shakeel Ahmed Khan ; Saima Tauseef ; Aqeel Ahmad. *Planta Med*, 2003, 69, 350-355.
6. Somdej Kanokmedhakul ; Kwanjai Kanokmedhakul ; Daungrudee Yodbuddee ; Nutchanat Phonkerd. *Journal of Natural Products*, 2003, 66, 616-619.