รายงานผลการดำเนินงาน
ปีงบประมาณ 2560

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง
องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นสำเภา

ผู้รับผิดชอบโครงการ

รองศาสตราจารย์ ภญ. ร.ต.อ.หญิง ดร. สุชาดา สุขหร่อง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภกาญจน์ ชำนิ

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นสำเภา
Chemical constituents and bioactivity of *Chaetocarpus castanocarpus* stem

รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ร.ต.อ.หญิง ดร.สุชาดา สุขหร่อง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภกาญจน์ ชำนิ

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปี 2560

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2560 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาสำเภา ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chaetocarpus castanocarpus* (Roxb.) Thwaites จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ซึ่งขึ้นในพื้นที่ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ต้นสำเภาได้ถูกนำมาศึกษาและพบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยกลไกการยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 (topoisomerase I) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการคลายเกลียวของดีเอ็นเอชนิด supercoil (supercoiled DNA) ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 จะส่งผลรบกวนกระบวนการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอและการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง ซึ่งสามารถนำหลักการนี้มาพัฒนาเพื่อค้นหายารักษาโรคมะเร็งได้ คณะผู้วิจัยได้สกัดและแยกสารสำคัญจากต้นสำเภาด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีได้ทั้งสิ้น 7 ชนิด เป็นสารที่ทราบแล้ว 5 ชนิด ได้แก่ acetyl aleuritolic acid, aleuritolic acid, stigmasterol, rhizophorin C, oureatacatechin และเป็นสารใหม่ในกลุ่ม primarane diterpene 2 ชนิด

คำสำคัญ: สำเภา, วงศ์ Euphorbiaceae, ต้านมะเร็ง, โทโพไอซอเมอเรส I, การแยกสารโดยใช้ฤทธิ์เป็นตัวนำ

Abstract

Chaetocarpus castanocarpus (Roxb.) Thwaites is in the Euphorbiaceae family. It was collected from Plant Genetic Conservation Project Under the Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Siridhorn, Samaesarn Island, Chonburi Province. Methanolic extract of *Chaetocarpus castanocarpus* stem exhibited anticancer with topoisomerase inhibitory activity. Topoisomerase I used for relaxing supercoiled DNA in the DNA replication step. Bioassay-guided fractionation with yeast cell-based assay has been used for isolation of bioactive compounds. Seven compounds were isolated from *Chaetocarpus castanocarpus* stem. Five known compounds are acetyl aleuritolic acid, aleuritolic acid, stigmasterol, rhizophorin C, and oureatacatechin. Two new compounds are primarane diterpenes.

Keywords: *Chaetocarpus castanocarpus, Euphorbiaceae, anticancer, topoisomerase I, bioassay-guided fractionation*

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
วิธีดำเนินการวิจัย	3
ผลการวิจัย	6
การสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากต้นสำเภา	6
สรุปและวิจารณ์ผล	17
เอกสารอ้างอิง	18
ประวัติผู้วิจัย	19

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	โครงสร้างทางเคมีของ 3-acetyl aleuritolic acid	9
ตารางที่ 2	โครงสร้างทางเคมีของ aleuritolic acid	10
ตารางที่ 3	โครงสร้างทางเคมีของ stigmasterol	12
ตารางที่ 4	โครงสร้างทางเคมีของ rizophorin C	13
ตารางที่ 5	โครงสร้างทางเคมีของ oureatacetechin	14
ตารางที่ 6	โครงสร้างทางเคมีของ new pimarane diterpene I	15
ตารางที่ 7	โครงสร้างทางเคมีของ new pimarane diterpene II	16

สารบัญภาพ

		หน้า
รูปที่ 1	ลักษณะการ spot ยีสต์ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	4
รูปที่ 2	แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบและการแยกสารด้วยเทคนิค quick column chromatography.....	6
รูปที่ 3	Thin layer chromatography แสดงองค์ประกอบเบื้องต้นของสารสกัดหยาบใน fraction ที่แยกได้จากต้นสำเภา.....	7
รูปที่ 4	การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 จากสารสกัดหยาบใน fraction A-G ที่แยกได้จากต้นสำเภา.....	7
รูปที่ 5	แผนภาพแสดงขั้นตอนการแยกสกัดสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค quick column chromatography และโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์จากต้นสำเภา.....	8

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นสำเภา

CHEMICAL CONSTITUENTS ANS BIOACTIVITY OF CHAETOCARPUS CASTANOCARPUS STEM

สุชาดา สุขหร่อง ศุภกาญจน์ ชำนิ
Suchada Sukrong, Supakarn Chamni

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากข้อมูลกระทรวงสาธารณสุขพบว่าคนไทยมีอัตราการเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งเป็นอันดับหนึ่งและมีแนวโน้มว่าจะมีผู้ป่วยเพิ่มขึ้น โรคมะเร็งจัดเป็นโรคค่าใช้จ่ายสูงและโรคเรื้อรัง อีกทั้งยังเป็นกลุ่มโรคที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของประชาชนก่อให้เกิดการสูญเสียชีวิตจากการเจ็บป่วย ส่งผลไปถึงทำให้เพิ่มรายจ่ายด้านสุขภาพของครัวเรือน สังคม ตลอดจนเป็นภาระค่าใช้จ่ายโดยรวมของประเทศ ถ้าสามารถศึกษาเพื่อค้นพบยาหรือสมุนไพรที่มีฤทธิ์ดังกล่าวก็น่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยเป็นอย่างมาก

เซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าเซลล์ปกติ ดังนั้นเซลล์มะเร็งย่อมมีการจำลองตัวของดีเอ็นเอ (DNA replication) สูงตามไปด้วย ซึ่งขั้นตอนของการจำลองตัวที่สำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งขั้นตอนหนึ่ง คือ การคลายเกลียวของดีเอ็นเอซนิด supercoil (supercoiled DNA relaxation) โดยเอนไซม์ที่ใช้สำหรับการคลายเกลียวของสายดีเอ็นเอ คือ เอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I (topoisomerase I) ซึ่งจะทำหน้าที่คลายปมเหนือจุดแยกด้วยการทำลายพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ระหว่างหมู่ฟอสเฟตกับไฮโดรเจนของสายดีเอ็นเอ ดังนั้นเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I จึงเป็นเป้าหมายหนึ่งของการรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีเคมีบำบัด เนื่องจากหากมีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว เซลล์ก็จะไม่สามารถแบ่งตัวได้ เซลล์มะเร็งซึ่งมีอัตราการแบ่งตัวสูงก็จะได้รับผลกระทบมากกว่าเซลล์ปกติ ในปัจจุบันมีการใช้ยารักษาโรคมะเร็งที่มีฤทธิ์ยับยังเอนไซม์ดังกล่าวแล้ว ได้แก่ camptothecin และ อนุพันธ์ของ camptothecin คือ Irinotecan® และ Topotecan® ในการรักษาโรคมะเร็งปอด มะเร็งรังไข่ และมะเร็งปากมดลูก

ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาศักยภาพในการต้านมะเร็งด้วยกลไกการยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I จากต้นสำเภา พืชที่ขึ้นในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ เกาะแสมสาร และทำการสกัดแยกสารเพื่อให้ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีเพื่อค้นหาสารตัวใหม่ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยกลไกการยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์ทางยาจากพืชไทย

สำเภา (*Chaetocarpus castanocarpus* (Roxb.) Thwaites) หรือ ขี้หนอน ขี้หนอนขาว เป็นไม้ต้น จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae (เต็ม สมิตินันทน์, 2544) สูงได้ถึง 45 เมตร มีหูใบรูปไข่กลับ หลุดร่วงง่าย

ใบ เดี่ยว เรียงสลับ แผ่นใบรูปไข่ กว้าง 1.5–8 เซนติเมตร ยาว 3.5–18.5 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม โคนใบสอบ ขอบใบเรียบ เนื้อใบหนา มีจุดโปร่งแสง เส้นแขนงใบ 7–9 คู่ ดอก เล็ก สีเหลืองอมเขียว หรือเหลืองอ่อน มีกลิ่นหอมอ่อนๆ แยกเพศ ดอกเพศผู้เล็กกว่าดอกเพศเมีย ออกเป็นช่อตามง่ามใบ มีขนหนาแน่น กลีบเลี้ยงมี 4 กลีบ ไม่มีกลีบดอก จานฐานดอกมีสีชมพูหรือแดง ผล ค่อนข้างกลม ขนาด 0.8–1.8 เซนติเมตร มีขนแข็ง สีเหลืองแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง เมื่อแก่แตกเป็น 3 พู เมล็ดรูปไข่ มีเยื่อบางๆ หุ้ม ประโยชน์ของสำเภาคือ ใบอ่อนใช้เป็นอาหาร เนื้อไม้ค่อนข้างแข็งใช้ในการก่อสร้างและทำด้ามเครื่องมือเครื่องใช้ ปัจจุบันยังไม่ปรากฏรายงานการใช้สำเภาเป็นยาและยังไม่มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพมาก่อน การศึกษาในครั้งนี้จึงนับเป็นครั้งแรกในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นสำเภา

งานวิจัยนี้จึงมุ่งหมายจะแยกสกัดสารและทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยกลไกการยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I ของสารสกัดจากต้นสำเภา เพื่อหาสารสำคัญที่เป็นตัวออกฤทธิ์ยับยั้งโทโพไอซอเมอเรส I โดยอาศัย Yeast cell-based assay

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยกลไกการยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I นั้น มีรายงานการใช้ยีสต์เป็นตัวทดสอบ การใช้ยีสต์เป็นตัวทดสอบจัดเป็น cell-based assay วิธีหนึ่ง และประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี (Sangmalee *et al*., 2012) โดยใช้สารมาตรฐาน camptothecin เป็นตัวควบคุมผลบวก เนื่องจากสาร camptothecin เป็นสารที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I (Bjornsti, 1991; Hsiang *et al*., 1995; Sirikantaramas *et al*., 2008; Reid *et al*, 1998) เหตุที่ใช้ยีสต์เพราะยีสต์เป็น eukaryote เช่นเดียวกับมนุษย์ ทำให้การแปลผลข้อมูลเพื่อการนำไปใช้ทางการแพทย์สำหรับมนุษย์มีความเป็นไปได้สูงกว่า ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ที่ใช้ในการทดสอบเป็นยีสต์ที่ได้รับการถ่ายโอนยีนแล้ว เป็นยีสต์ที่ถูกตัดยีนโทโพไอซอเมอเรส I ของตัวเองออกแล้วถูกแทนที่ด้วยยีนโทโพไอซอเมอเรส I ของพืช *Arabidosis thaliana* ที่สามารถควบคุมการแสดงออกของยีนโทโพไอซอเมอเรส I ให้มากขึ้นได้ (โดยใช้ galactose-induced system) ทำให้ยีสต์ผลิตเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I ได้มากขึ้นจนสามารถใช้ในการคัดกรองได้ เหตุที่เลือกใช้ *A. thaliana* เนื่องจากมีรายงานว่าเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I ของพืชดังกล่าวตอบสนองได้ดี (sensitive) ต่อสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I (Sirikantaramas *et al*., 2008) ผลการทดลองจะวัดจากการเจริญเติบโตของยีสต์ที่ถูกนำมาเลี้ยงร่วมกับสารที่แยกได้จากใบสำเภาที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งหากสารที่เรานำมาทดสอบมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส I ได้ ยีสต์ก็จะไม่เจริญเติบโตหรือเติบโตน้อยกว่าตัวควบคุม แต่หากสารที่นำมาทดสอบไม่มีฤทธิ์ดังกล่าวยีสต์ก็จะเจริญเติบโตได้ตามปกติ

สารสำคัญที่แยกได้จากใบสำเภาที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวจะเป็นการเพิ่มศักยภาพของพืชไทยในการใช้ประโยชน์ทางยา และเป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับการรักษาโรคมะเร็งโดยใช้สารจากธรรมชาติต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อสกัดแยกและพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญจากต้นสำเภาและศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สกัดได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารที่แยกได้จากต้นสำเภาเพื่อใช้ประโยชน์ทางยาและเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้สนใจจะทำการวิจัยต่อ นอกจากนี้โครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีของใบสำเภาอาจใช้เป็น lead compound ในการพัฒนายาต้านมะเร็งชนิดใหม่

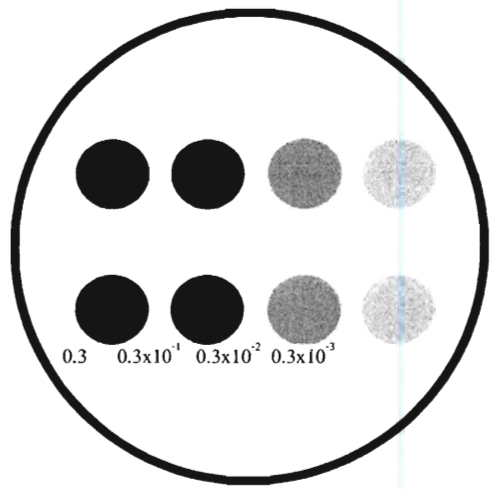
วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างสำเภา เก็บต้นสำเภาจากพื้นที่ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ที่บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี
2. การเตรียมตัวอย่างสำเภาเพื่อตรวจหาส่วนของพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 โดยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วผ่านการลดขนาด
3. แช่สกัดส่วนต้นของสำเภาปริมาณ 4.4 kg ด้วย 95% EtOH ปริมาตร 10-13 L ระยะเวลา 4-5 วัน ทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำมาระเหยแห้งภายใต้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนจนได้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract)
4. กระจายสารสกัดหยาบ ประมาณ 50 g ลงในน้ำปริมาตร 400 ml เทใส่ลงใน separating funnel จากนั้นเติม EtOAc ปริมาตร 100 ml ลงไปเขย่าให้เกิดการแยกชั้น (partition) จากนั้นไขเก็บสารสกัดในชั้น EtOAc (ชั้นบน) ออกมา แล้วค่อยเติม EtOAc ลงไปทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง ต่อมานำสารสกัดชั้นน้ำที่เหลือมา partition ต่อด้วย EtOAc ซ้ำอีก 3 ครั้ง โดยจะทำขั้นตอนนี้ซ้ำจนกว่าจะครบปริมาณของ crude extract ที่สกัดออกมาได้
5. รวมสารสกัดชั้น EtOAc ทั้งหมดที่ได้มาทั้งหมด นำมาระเหยแห้งภายใต้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนจนได้สารสกัดของชั้น EtOAc
6. รวมสารสกัดชั้นน้ำทั้งหมดมาเป่าลมที่อุณหภูมิห้องจนได้สารสกัดข้นเหนียวของชั้นน้ำ
7. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 ของสารสกัดหยาบ, สารสกัดชั้น EtOAc และสารสกัดชั้นน้ำ ที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/ml
8. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 ของสารสกัด ที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/ml ด้วยวิธี yeast cell-based assay

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 จะทำการทดสอบการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ RS190 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกาแลคโตสและอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส ยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C โดยที่ก่อนนำยีสต์มาใช้ทดสอบจะต้องทำการ subculture ยีสต์ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งลักษณะเอียงเป็นแนวลาด (slant agar) และบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

ขั้นตอนการเตรียมยีสต์มาใช้ในการทดสอบ

1) subculture จาก slant agar ที่เก็บไว้ในตู้เย็น ลงบน slant agar อันใหม่ และบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
2) subculture ยีสต์จาก slant agar ลงใส่ลงในอาหารเหลว (broth) จากนั้นนำไปเขย่า 200 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
3) ตรวจดูความสมบูรณ์ของยีสต์ โดยย้อมสียีสต์ด้วย nigrosin แล้วนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า
4) วัด OD ของ broth ที่มียีสต์ ที่ความยาวคลื่น 600 nm ให้ได้ค่า OD ประมาณ 0.3
5) เจือจางความเข้มข้นยีสต์ลง 10 เท่าด้วย broth ได้เป็น serial dilution มีความเข้มข้นที่ 0.3, $0.3x10^{-1}$, $0.3x10^{-2}$ และ $0.3x10^{-3}$ OD/ml
6) spot ยีสต์ลงบนอาหารเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตร 5 µl ในลักษณะดัง**รูปที่ 1**



รูปที่ 1 ลักษณะการ spot ยีสต์ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ขั้นตอนการเตรียมสารที่ใช้ในการทดสอบ

1) เตรียม stock solution ของสารสกัดและแคมป์โทเธซินโดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย
2) เจือจาง stock solution ด้วย DMSO ให้ได้เป็นความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ
3) นำสารทดสอบแต่ละความเข้มข้นที่ปริมาตร 100 µl ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปริมาตร 10 ml
4) เทอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารทดสอบแล้วลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้แข็งตัว แล้วจึง spot ยีสต์ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
5) วิเคราะห์ผลที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ ถ้ายีสต์สามารถเจริญเติบโตบนอาหารสูตรกลูโคส แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารสูตรกาแลคโตส แสดงว่าสารทดสอบนั้นมีฤทธิ์ยับยั้ง TOP1 โดยในการทดสอบนี้จะใช้แคมป์โทเธซินเป็นตัวควบคุมผลบวกและ DMSO เป็น vehicle control

9. หาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการแยกสารสกัดด้วย column chromatography

การศึกษาหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมจะใช้เทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) โดยการนำสารสกัดที่ต้องการแยกให้บริสุทธิ์มาทดสอบด้วยเทคนิค TLC ในระบบตัวทำละลายต่างๆ ดังนี้

- MeOH
- MeOH : H_2O (9:1)
- MeOH : H_2O (1:1)
- MeOH : CH_2Cl_2 (9:1)
- EtOAc : CH_2Cl_2 (7:3)
- EtOAc : CH_2Cl_2 (3:7)
- EtOAc : hexanes (7:3)
- EtOAc : hexanes (3:7)

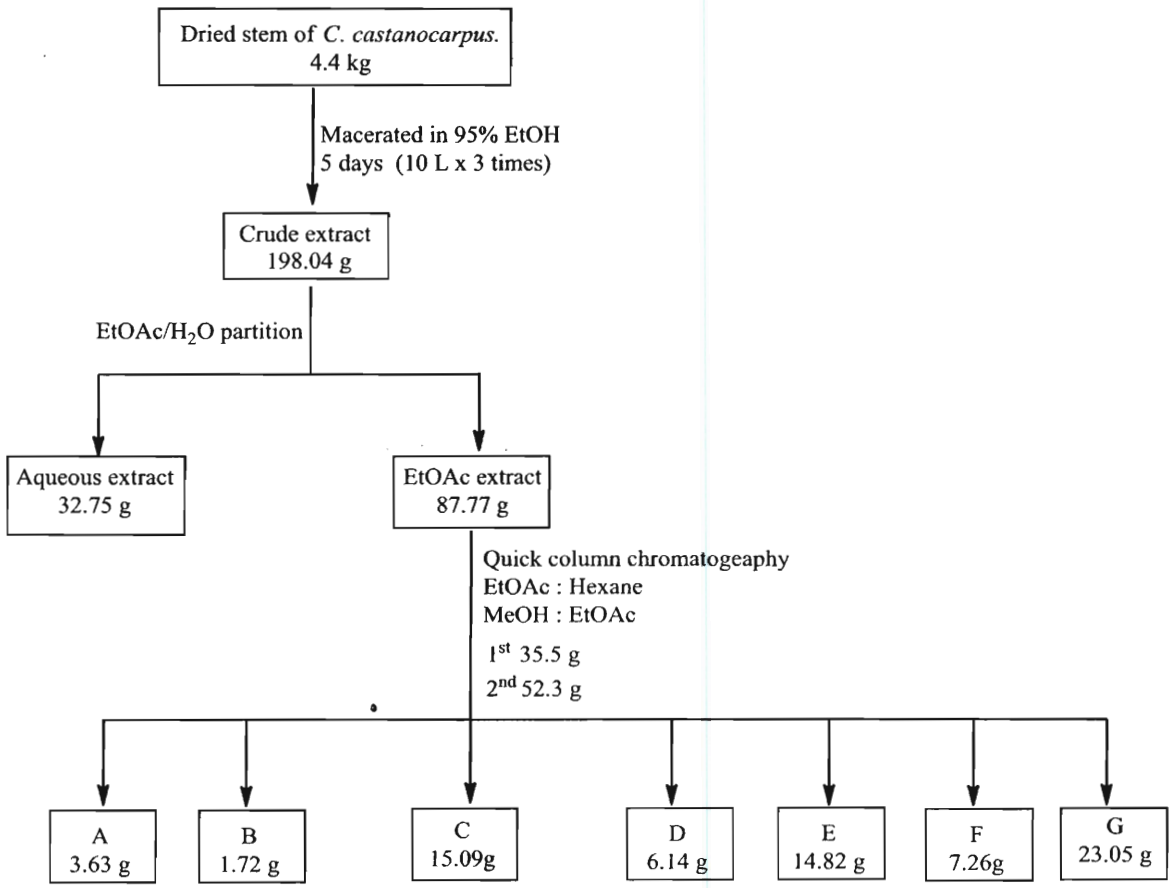
พบว่าระบบตัวทำละลายที่สามารถแยกสารสกัดได้ดี ได้แก่ระบบตัวทำลายของ EtOAc: heaxane มาใช้เป็นระบบตัวทำละลายสำหรับ Quick Column Chromatography

10. แยกสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี Column Chromatography
11. พิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซสเปกโตรสโคปี (Nuclear magnetic resonancespectroscopy, NMR)

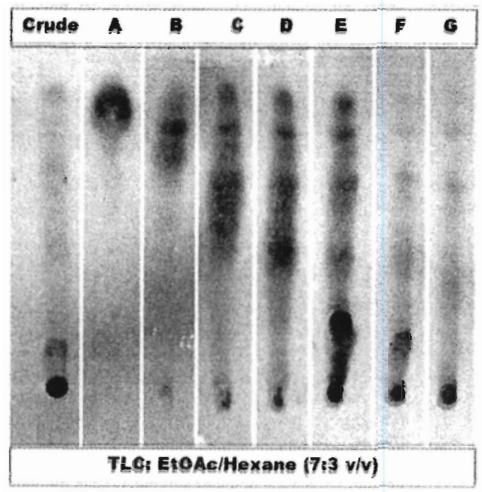
ผลการวิจัย

การสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากต้นสำเภา

จากการศึกษาการแยกสารให้บริสุทธิ์จากส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate ของต้นสำเภาซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 โดยทำการแยกสารด้วยวิธี quick column chromatography ด้วยระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม **(รูปที่2)** จะได้สารสกัดหยาบใน fraction A-G ซึ่งจากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีใน fraction A-G ด้วยวิธี thin layer chromatography (TLC) พบว่าได้ chromatogram ดัง**รูปที่ 3**

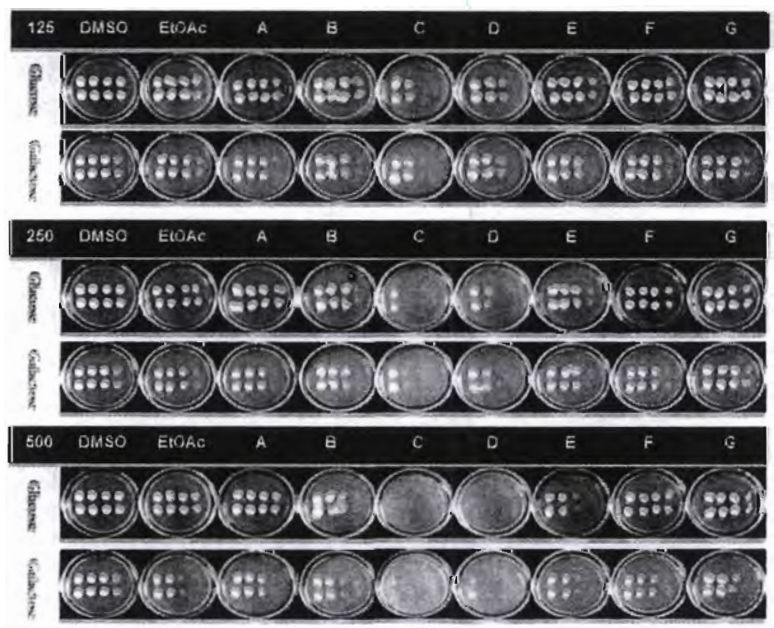


รูปที่ 2 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบและการแยกสารด้วยเทคนิค quick column chromatography



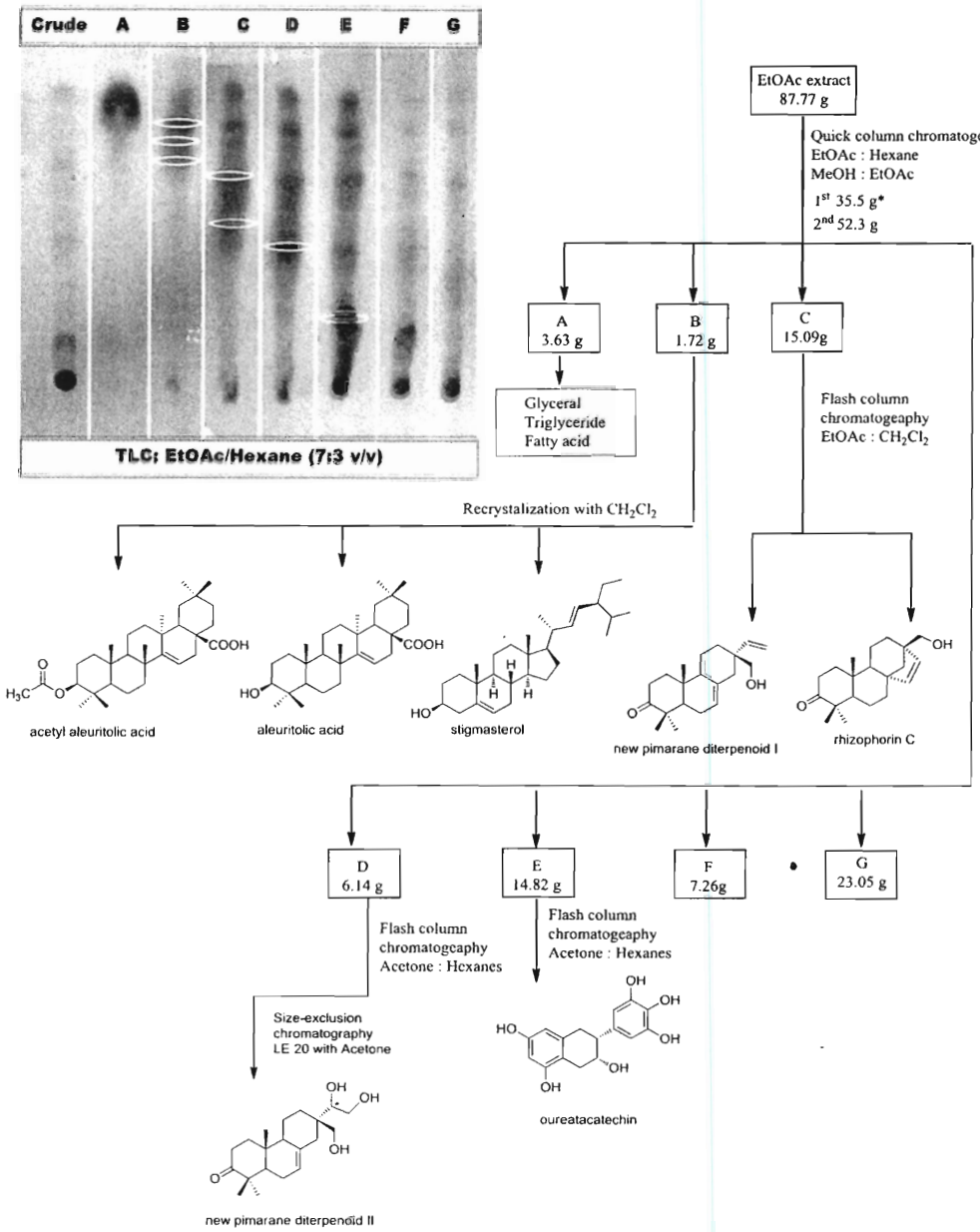
รูปที่ 3 Thin layer chromatography แสดงองค์ประกอบเบื้องต้นของสารสกัดหยาบใน fraction ที่แยกได้จากต้นสำเภา

นำสารสกัดหยาบใน fraction A-G มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น เพื่อศึกษาความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าสารสกัดหยาบใน Fraction C และ D สามารถยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 ได้ที่ความเข้มข้น 125 µg/ml **(รูปที่ 4)**



รูปที่ 4 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 จากสารสกัดหยาบใน fraction A-G ที่แยกได้จากต้นสำเภา

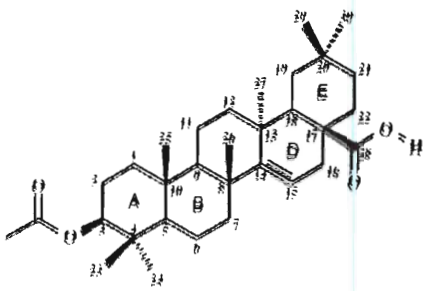
สารสกัดหยาบใน fraction A-G ได้ถูกนำมาศึกษาการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค flash column chromatography และ size exclusion chromatography ด้วยระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม **(รูปที่ 5)**



รูปที่ 5 แผนภาพแสดงขั้นตอนการแยกสกัดสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค quick column chromatography และโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์จากต้นสำเภา

พบว่า faction A ประกอบด้วยสารในกลุ่ม glycerol, triglyceride และ fatty acid fraction B ประกอบด้วยสาร triterpenoid ได้แก่ acetyl alueuritolic acid, lueuritolic acid และ stimasterol โดยสารทั้ง 3 ชนิด สามารถแยกออกจากกันด้วยการตกผลึก fraction C และ fraction D ประกอบด้วยสาร diterpenoid ได้แก่ rizophorin C และ pimarane diterpenoid ชนิดใหม่ และ fraction E ประกอบด้วยสาร oureatacetechin โดยรายละเอียดโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จาก fraction A-D **(ตาราง 1-6)**

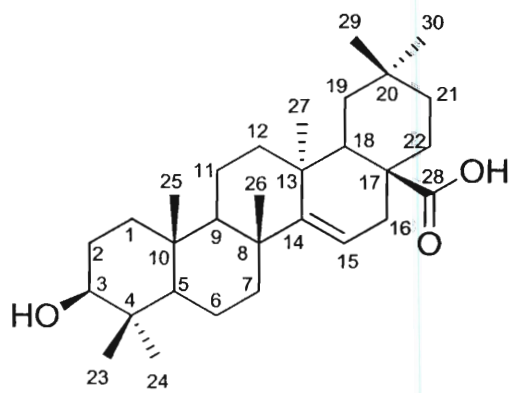
ตารางที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ 3-acetyl aleuritolic acid



ตำแหน่ง	δc (ppm)	δH (ppm)
1	37.38	-
2	23.46	-
3	80.88	4.48 (*dd*, *J* = 9.4, 6.3 Hz)
4	37.31	-
5	55.59	0.88 (*m*)
6	18.73	-
7	40.75	-
8	39.03	-
9	49.07	-
10	37.93	-
11	17.31	-
12	33.66	-
13	37.68	-
14	160.55	-
15	116.83	5.54 (*dd*, *J* = 8.0, 3.4 Hz)
16	31.31	-

17	51.48	-
18	41.40	-
19	35.33	-
20	29.31	-
21	33.32	-
22	30.70	-
23	27.96	0.88 (*s*)
24	16.60	0.86 (*s*)
25	15.64	0.95 (*s*)
	26.20	0.95 (*s*)
26		
27	22.46	0.92 (*s*)
28	184.06	-
29	31.86	0.93 (*s*)
30	28.66	0.90 (*s*)
CH$_3$(CO)	21.30	2.06 (*s*)
CH$_3$(*CO*)	170.99	-

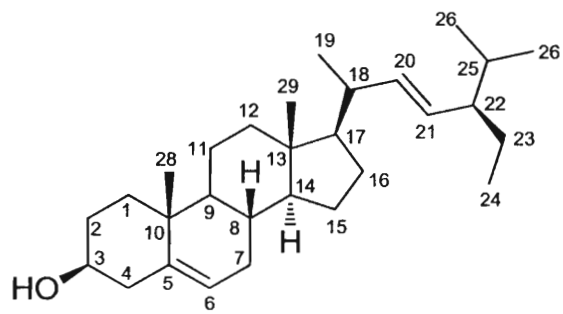
ตารางที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ aleuritolic acid



ตำแหน่ง	δC (ppm)	δH (ppm)
1	39.0	-
2	22.5	-
3	79.0	3.18 (*dd*, *J* = 9.4, 6.3 Hz)
4	38.7	-

5	55.5	0.88 (*m*)
6	18.8	-
7	40.9	-
8	39.0	-
9	49.1	-
10	38.0	-
11	17.3	-
12	33.7	-
13	37.7	-
14	160.6	-
15	116.7	5.52 (*dd*, *J* = 8.0, 3.4 Hz)
16	31.4	2.37 (*dd*, *J* = 14.4, 7.4 Hz)
17	51.3	-
18	41.5	-
19	35.4	-
20	29.3	-
21	33.4	-
22	30.9	-
23	28.0	0.88 (*s*)
24	15.5	0.86 (*s*)
25	15.4	0.95 (*s*)
26	26.1	0.95 (*s*)
27	22.5	0.92 (*s*)
28	183.7	-
29	31.9	0.93 (*s*)
30	28.6	0.90 (*s*)

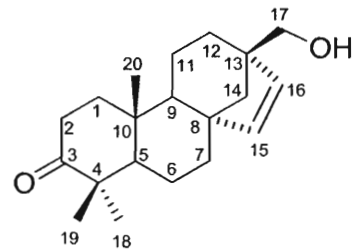
ตารางที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ stigmasterol



ตำแหน่ง	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
1	37.2	-
2	33.9	-
3	71.8	3.51 *(m)*
4	42.3	-
5	140.7	5.31 *(m)*
6	121.7	-
7	31.8	-
8	31.6	-
9	50.1	-
10	36.5	-
11	21.1	-
12	39.8	-
13	42.2	-
14	56.9	-
15	24.3	-
16	29.1	-
17	56.8	-
18	40.5	-
19	21.2	0.91
20	138.3	4.98 *(s)*
21	129.3	5.14 *(m)*
22	45.8	-
23	25.5	

24	12.0	0.83
25	29.1	-
26	21.1	0.82
27	19.8	0.80
28	19.0	0.71 *(s)*
29	12.0	1.03 *(s)*

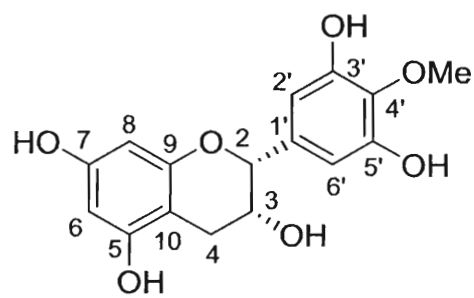
ตารางที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของ rizophorin C



ตำแหน่ง	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
1	37.9	1.38 (*m*) 1.92 (*m*)
2	34.4	2.55 (*m*) 2.32 (*m*)
3	217.4	
4	47.7	
5	55.6	1.35 (*d, J = 5.1 Hz*)
6	19.8	1.34 (*m*) 1.34 (*m*)
7	36.5	1.44 (*m*) 1.75 (*m*)
8	48.4	
9	52.4	1.07 (*m*)
10	36.9	-
11	21.0	1.52 (*m*) 1.52 (*m*)
12	27.6	1.42 (*m*)

13	50.1	-
14	55.3	1.02 (*m*) 1.68 (*m*)
15	136.5	5.84 (*d, J = 6.2 Hz*)
16	132.5	5.64 (*d, J = 6.2 Hz*)
17	68.5	3.50 (*d, J = 10.8 Hz*)
18	26.2	1.08 (*s*)
19	21.9	1.05 (*s*)
20	14.7	0.92 (*s*)

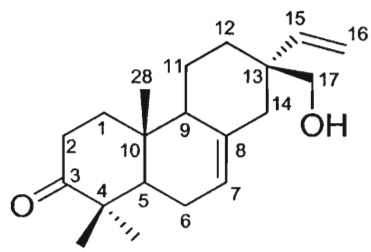
ตารางที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของ oureatacetechin



ตำแหน่ง	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
1		-
2	79.5	4.77 (*s*)
3	67.3	4.19 (*br t*)
4	29.1	2.80 (*ddd, J* = 4.5, 16.8, 39.0 Hz)
5	157.0	-
6	95.9	5.94 (*d, J* = 2.2 Hz)
7	157.8	-
8	96.4	5.94 (*d, J* = 2.2 Hz)
9	157.5	-
10	100.1	-

1’	136.0	-
2’, 6’	107.1	6.54 (*s*)
3’, 5’	151.2	-
4’	136.5	-
OMe	60.8	3.79 (*s*)

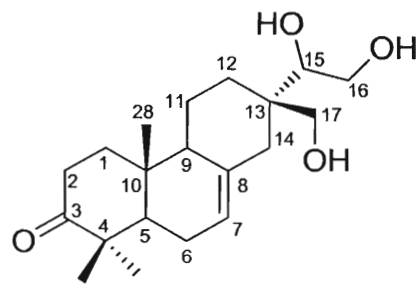
ตารางที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของ new pimarane diterpene I



ตำแหน่ง	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
1	38.1	1.29 (*m*) 1.66 (*m*)
2	34.7	2.24 (*m*) 2.68 (*m*)
3	216.9	-
4	47.5	-
5	51.6	1.71 (*m*)
6	23.8	2.06 (*m*) 1.87 (*m*)
7	121.2	5.45
8	134.9	-
9	51.7	1.51 (*m*)
10	35.3	-
11	20.2	1.51 (*m*) 1.32 (*m*)
12	32.3	1.30 (*m*) 1.68 (*m*)
13	43.4	-

14	40.2	1.95 (*d, J = 14.4 Hz*) 2.47 (*d, J = 14.4 Hz*)
15	141.7	5.55 (dd, *J = 17.7, 10.8 Hz*)
16	117.9	5.13 (*d, J = 17.7 Hz*) 5.30 (*d, J = 10.8 Hz*)
17	71.6	3.34 (*d, J = 10.8 Hz*) 3.28 (*d, J = 10.8 Hz*)

ตารางที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของ new pimarane diterpene II



ตำแหน่ง	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
1	38.2	1.27 (*m*) 1.65 (*m*)
2	34.5	2.25 (*m*) 2.68 (*m*)
3	216.8	-
4	47.5	-
5	51.3	1.74 (*m*)
6	23.7	2.03 (*m*) 1.87 (*m*)
7	121.0	5.40
8	134.9	-
9	51.5	1.57 (*m*)
10	35.1	-
11	20.1	1.54 (*m*) 1.34 (*m*)
12	32.3	1.31 (*m*)

		1.63 (*m*)
13	43.3	-
14	40.1	1.93 (*d, J = 14.4 Hz*) 2.44 (*d, J = 14.4 Hz*)
15	78.5	3.53 (*m*)
16	72.1	3.43 (*d, J = 17.7 Hz*) 3.30 (*d, J = 10.8 Hz*)
17	71.6	3.35 (*d, J = 10.8 Hz*) 3.29 (*d, J = 10.8 Hz*)

สรุปและวิจารณ์ผล

สารสกัดส่วนต้นของสำเภามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 ได้ดี จึงทำการแยกสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 จากสารสกัดส่วนต้นของสำเภา โดยเริ่มต้นจากการสกัดสารจากต้นสำเภาและทำการแยกส่วนออกมาเป็น 2 ส่วน คือส่วน EtOAc และส่วนน้ำ เพื่อแบ่งสารออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์และกลุ่มที่ละลายน้ำ หลังจากนั้นนำแต่ละส่วนไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 ซึ่งพบว่าส่วน EtOAc ที่ความเข้มข้น 250 µg/ml และ 500 µg/ml มีฤทธิ์ที่ดีกว่าในทุกความเข้มข้นของชั้นน้ำ ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 อยู่ในชั้น EtOAc จึงนำชั้น EtOAc มาแยกต่อเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์

เมื่อทำการแยกสารชั้น EtOAc ด้วยวิธี quick column chromatography และตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี สามารถรวม fraction ต่าง ๆ ได้เป็นสารสกัดหยาบ fraction A-G จากนั้นเมื่อนำสารสกัดหยาบใน fraction A-G มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น พบว่าทุก Fraction มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โทโพไอซอเมอเรส 1 ได้

- จากการสกัดแยกสาร สามารถแยกสารได้ทั้งสิ้น 7 ชนิด เป็นสารที่เคยมีรายงานแล้ว 5 ชนิด ได้แก่ acetyl aleuritolic acid, aleuritolic acid, stigmasterol, rhizophorin C, oureatacatechin และเป็นสารใหม่ในกลุ่ม primarane diterpene 2 ชนิด นับเป็นครั้งแรกที่มีการแยกสารบริสุทธิ์ออกจากต้นสำเภา

สามารถประยุกต์ผลงานโดยการใช้โครงสร้างของสารที่สกัดได้เป็น lead compounds แล้วเปลี่ยนแปลงโครงสร้างให้มีฤทธิ์ดีขึ้น หรือสังเคราะห์โดยใช้วิธีการทางเคมี หาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารที่สกัดได้นอกเหนือไปจากฤทธิ์ต้านมะเร็ง

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันทน์. 2544. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544. กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน จำกัด. 2544. หน้า 121.
2. Sangmalee S , Laorpaksa A, Sukrong S. (2012). A topoisomerase II poison screen of ethnomedicinal Thai plants using a yeast cell-based assay. Journal of Ethnopharmacology. 142(2):432-437.
3. Bjornsti MA. (1991). DNA topoisomerases. Current Opinion in Stuctural Biology. 1: 99-103.
4. Hsiang YH, Hertzberg R, Hecht S, and Liu LF. (1985). Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. The Journal of Biological Chemistry. 260(27): 14873-14878.
5. Sirikantaramas S, Yamazaki M, Saito K, (2008). Mutations in topoisomerase I as a self-resistance mechanism coevolved with the production of the anticancer camptothecin in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences. United States of America. 105(18): 6782-6786.
6. Reid RJD, Benedetti P, Bjornsti MA. (1998). Review yeast as a model organism for studying the actions of DNA topoisomerase-targeted drugs. Biochemica et Biophysica Acta. 1400: 289-300.

รองศาสตราจารย์ ภญ. ร.ต.อ.หญิง ดร.สุชาดา สุขหร่อง
หัวหน้าโครงการ
31 มกราคม 2560

ประวัติผู้วิจัย

ร.ต.อ.หญิง สุชาดา สุขหร่อง

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ร.ต.อ.หญิง สุชาดา สุขหร่อง
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Police Captain Suchada Sukrong
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1206 00099 48 6
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ดร.
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรศัพท์มือถือ โทรสาร และ e-mail
   หน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท เขตปทุมวัน กทม. 10330
   โทรศัพท์ : 02-218-8364 081-8196742, โทรสาร : 02-218-8357
   Email : suchada.su@chula.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
ภ.บ.	เภสัชศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2533
ภ.ม.	เภสัชเวท	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2537
Ph.D.	PlantPhysiology/ Biochemistry/ Molecular Biology	University of Kentucky, U.S.A.	2547

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   Bioactivity of natural products, Plant tissue culture

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ *(โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย)*
   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย -
   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย
      1. ศักยภาพการใช้สารสกัดจากเซลล์ต้นกำเนิดในการใช้ประโยชน์ทางยา, มหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ, สกอ, ปี 2554-2556
      2. การศึกษาพืชสมุนไพรไทยที่สร้างอัลคาลอยด์ต้านมะเร็ง: แคมโททีซิน, ทุนวิจัยทุนวิจัยเซเรบอส Cerebos Award (Thailand) 2008, ปี 2551

3. การคัดกรองพืชสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase I โดยการใช้ยีสต์ที่ได้รับยีนถ่ายโอน, กองทุนสนับสนุนการวิจัยโครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว.-สถาบันการศึกษา (MAG Window II) ปี 2551
4. การชักนำให้เกิดรากขนของผักหลอดดอกขาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการย้ายปลูก, โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว.-อุตสาหกรรม (MAG Window I) ปี 2551
5. การพิสูจน์เอกลักษณ์วัตถุดิบสมุนไพรโดยใช้ลักษณะทางมหทรรศน์และจุลทรรศน์โครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง และการใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ, โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว.-อุตสาหกรรม (MAG Window I) ปี 2551
6. การศึกษาความเสถียรของสีธรรมชาติเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง, โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว.-อุตสาหกรรม (MAG Window I) ปี 2550
7. การศึกษาคุณสมบัติการกระตุ้นทางชีวภาพของน้ำหมักชีวภาพจากพืชต่อความทนทานภายใต้สภาวะเครียดจากออกซิเดชั่นในข้าว, สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษากับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ปี 2549-2551

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : *(ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุนย้อนหลังไม่เกิน 5 ปี)*

1. Suktap C, Lee HY, Amnuayp S, Suttisri R, **Sukrong S. 2018**. Wound healing effect of flavonoid glycosides from Afgekia mahidolae leaves. Rec Nat Prod. (in press)
2. Nuntawong P, Kongkatitham V, Likhitwitayawuid K, Mekboonsonglarp W, **Sukrong S,** Tanasupawat S, Sritularak B. **2018.** New 2-arylbenzofurans from the root bark of Artocarpus gomezianus and their **α**-glucosidase inhibitory activity. Nat Prod Res. (in press)
3. Khanthapok P, Sang-Awut N, Chakhonkaen S, Pitngam K, Osadcenco A, **Sukrong S,** Muangprom A. **2018.** Identification of ethanol-inducible genes and isolation of the Myb-related protein-like promoter in Oryza sativa L.. J Plant Growth Regulation. (in press)
4. Rattanapisit K, Srijangwad A, Chuanasa T, **Sukrong S,** Tantituvanont A, Mason, HS, Nilubol D, Phoolcharoen W. **2017**. Rapid transient production of a monoclonal antibody neutralizing the Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in Nicotiana benthamiana and Lactuca sativa. Planta Medica. 83(18):1412-1419.

5. Jabsuwan A, **Sukrong S,** Swasdison S, Towiwat P. **2017.** Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the ethanolic extract of Curcuma aff. amada. Chiang Mai J Sci. 44(3):912-928.
6. Lertnitikul N, Jittham P, Khankhampoch L, Pattamadilok C, **Sukrong S,** Suttisri R. **2016.** Cytotoxic stilbene from the roots of Paphiopedilum godefroyae. J Asian Nat Prod Res. 18(12):1143-1150.
7. Cheun-Arom T, Temeeyasen G, Tripipat T, Kaewprommal P, Piriyapongsa J, **Sukrong S,** Chongcharoen W, Tantituvanont A, Nilubol D. **2016.** Full-length genome analysis of two genetically distinct variants of porcine epidemic diarrhea virus in Thailand. Infect Genet Evol. 44(1): 114-121.
8. Aman Tedasen, **Sukrong S,** Boonchoo Sritularak, Theera Srisawat, Potchanapond Graidist. **2016.** The natural flavonoid 5,7,4□-trihydroxy-6,8-diprenylisoflavone and lupalbigenin-induced cell death on breast cancer cell lines. Biomed & Pharmacother. 81:235–241.
9. Sangmalee S, Laorpaksa A, Sritularak B, **Sukrong S. 2016.** Bioassay-guided isolation of two flavonoids from Derris scandens with topoisomerase II poison activity. Biol Pharm Bull. 39(4):631-635.
10. Petpiroon N, Suktap C, Pongsamarta S, Chanvorachote P, **Sukrong S. 2015.** Kaempferol-3-O-rutinoside from Afgekia mahidoliae promotes keratinocyte migration through FAK and Rac1 activation. J Nat Med. 69(3):340–348.
11. Ausawasamrit A, Itthiwarapornkul N, Chaotham C, **Sukrong S,** Chanvorachote P. **2015.** Lupalbigenin from Derris scandens sensitizes detachment-induced cell death in human lung cancer cells. Anticancer Res. 35(5):2827-34.
12. Khanthapok P, Muangprom A, **Sukrong S. 2015.** Antioxidant activity and DNA protective properties of rice grass juices. ScienceAsia. 41(2):119–129.
13. Ketmongkhonsit P, Chaichantipyuth C, Palanuvej C, Thitikornpong W, and **Sukrong S. 2015.** A validated TLC-image analysis method for detecting and quantifying bioactive phyllanthin in Phyllanthus amarus and commercial herbal drugs. Songklanakarin J Sci Technol. 37(3):319-326.

14. Pornprasertpol A, Sereemaspun A, Sooklert K, Satirapipatkul C, **Sukrong S. 2015.** Anticancer activity of selected Colocasia gigantia fractions. J Med Assoc Thai. Suppl 1:S98-106.
15. Boonyarikpunchai W, **Sukrong S**, Towiwat P. **2014**. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of roamarinic acid isolated from Thunbergia laurifolia Lindl. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 124:67-73.
16. Wiriyakaruna S, Zhu S, Komatsu K, **Sukrong S. 2014**. The use of cycleave PCR for the differentiation of the rejuvenating herb species Pueraria candollei (White Kwao Khruea), Butea superba (Red Kwao Khruea), and Mucuna macrocarpa (Black Kwao Khruea), and the simultaneous detection of multiple DNA targets in a DNA admixture. Nat Prod Commun. 9(1):111-117.
17. Vimolmangkang S, Somkhanngoen C, **Sukrong S. 2014**. Potential pharmaceutical uses of silkworm excreta. Chiang Mai J Sci. 41(1): 97-104.
18. Suwanchaikasem P, Chaichantipyuth C, **Sukrong S. 2014**. Antioxidant-guided isolation of rosmarinic acid, a major constituent from Thunbergia laurifolia, and its use as a bioactive marker for standardization. Chiang Mai J Sci. 41(1): 117-127.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ: ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

1. โครงการสนองพระราชดำริฯ อพ.สธ. เรื่อง "องคประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของใบสำเภา" โดยเปนหัวหนาโครงการวิจัย แหลงทุน: จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย พ.ศ. 2560
2. โครงการวิจัย เรื่อง "พัฒนาเครื่องมือตรวจสอบเอกลักษณพืชสมุนไพรเพื่อรองรับการอนุญาต" โดยเปนหัวหนาโครงการวิจัยยอย แหลงทุน:สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ประจำปงบประมาณ พ.ศ. 2560
3. โครงการวิจัย เรื่อง "ดีเอ็นเอบารโคดของพืชสมุนไพรในตำราอางอิงยาสมุนไพรไทย" โดยเปนหัวหนาโครงการวิจัย แหลงทุน:กองทุนภูมิปญญาการแพทยแผนไทย กระทรวงสาธารณสุข ประจำปงบประมาณ พ.ศ. 2559-2561

4. โครงการบูรณาการงานวิจัยสูนานาชาติ ประเภท ทุนสงเสริมกลุมนักวิจัย เรื่อง "การคัดกรองโดยจุลินทรียเพื่อคนพบสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ" โดยเปนหัวหนาโครงการวิจัยยอย แหลงทุน: จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย พ.ศ. 2559-2561

5. โครงการการเชื่อมโยงงานวิจัยกับการนำไปใชประโยชนตอภาคเอกชน/ภาคธุรกิจ/ภาคอุตสาหกรรม เรื่อง "การพิสูจนเอกลักษณหญาดอกขาว" " โดยเปนหัวหนาโครงการวิจัยยอย แหลงทุน: กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ประจำปงบประมาณ พ.ศ. 2559-2561

นางสาวศุภกาญจน์ ชำนิ

1. **ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)** นางสาวศุภกาญจน์ ชำนิ
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Supakarn Chamni
2. **เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน** 3 1101 02282 50 35
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน** อาจารย์ ดร.
4. **หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก**
   หน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กทม. 10330
   โทรศัพท์ : 02-218-8364 โทรสาร : 02-218-8357 Email : supakarn.c@chula.ac.th
5. **ประวัติการศึกษา**

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
ปริญญาตรี	เคมี	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	2548
ปริญญาเอก	เคมี	Texas A&M University	2554

6. **สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ**
   - เคมีของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Chemistry of natural product)
   - เคมีอินทรีย์เชิงสังเคราะห์เพื่อการค้นพบและพัฒนายา (Medicinal chemistry and drug design)
   - การวิเคราะห์โครงสร้างของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสารสังเคราะห์ด้วยเครื่องมือ NMR, IR และ MS
7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย

1. โครงการวิจัยเรื่อง: "การศึกษาและพัฒนาอนุพันธ์ของสารฟีนอลลิคแอซิดจากธรรมชาติเพื่อใช้เป็นสารยับยั้งเอนไซม์นิวรามินิเดสในการรักษาโรคไข้หวัดใหญ่"
   หัวหน้าโครงการ คือ อาจารย์ ดร. ศุภกาญจน์ ชำนิ
   ผู้ร่วมโครงการ คือ รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย ดีเอกนามกูล
   แหล่งทุนวิจัย ทุนนักวิจัยใหม่ (วท.) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
   ปีที่ได้รับทุน-ระหว่างดำเนินการ: โดยเริ่มตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2559 ถึง ธันวาคม 2560
   วงเงินที่ได้รับทุน คือ 250,000 บาท
2. โครงการวิจัยเรื่อง: "สารต้านมะเร็งจากอนุพันธ์ชนิดใหม่ของเรนิอีราไมซินและการศึกษากลไกต้านมะเร็งด้วยสารเคมีจากเตตราไฮโดรไอโซควิโนลีน"

หัวหน้าโครงการ คือ อาจารย์ ดร. ศุภกาญจน์ ชำนิ
ผู้ร่วมโครงการ คือ อาจารย์ ภก. ดร.คณิต สุวรรณบริรักษ์ และ รศ. ภก. ดร.ปิติ จันทร์วรโชติ
แหล่งทุนวิจัย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
ปีที่ได้รับทุน: โดยเริ่มตั้งแต่เดือน พฤษภาคม 2559 ถึงเดือน เมษายน 2561
วงเงินที่ได้รับทุน คือ 600,000 บาท

3. โครงการวิจัยเรื่อง: "การศึกษากระบวนการสังเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มไอโซ ควิโนลีจากสิ่งมีชีวิตทางทะเลเพื่อพัฒนาเป็นสารต้านมะเร็ง"
หัวหน้าโครงการ คือ Prof. Naoki Saito
ผู้ร่วมโครงการ คือ อาจารย์ ภก. ดร.คณิต สุวรรณบริรักษ์ และ ดร.ศุภกาญจน์ ชำนิ
แหล่งทุนวิจัย MPU-AACDD Grant, Meiji Pharmaceutical University, Japan
ปีที่ได้รับทุน: โดยเริ่มตั้งแต่เดือน พฤศจิกายน 2557 ถึงเดือน ธันวาคม 2560
วงเงินที่ได้รับทุน คือ 500,000 บาท
4. โครงการวิจัยเรื่อง: "การสังเคราะห์อนุพันธ์ของเอเชียติกแอซิดจากใบบัวบกเพื่อศึกษากลไกการสร้างเนื้อเยื่อปริทันต์และการค้นพบยารักษาโรคปริทันต์"
หัวหน้าโครงการ คือ อาจารย์ ดร. ศุภกาญจน์ ชำนิ
ผู้ร่วมโครงการ คือ ศาสตราจารย์ ทพ. ดร.ประสิทธิ์ ภวสันต์
แหล่งทุนวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช
ปีที่ได้รับทุน-แล้วเสร็จ: โดยเริ่มตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2557 ถึงเดือน ธันวาคม 2559
วงเงินที่ได้รับทุน คือ 400,000 บาท

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้วย้อนหลัง 5 ปี (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่ตีพิมพ์)

1. Quantitative Chemoproteomic Profiling Reveals Multiple Target Interactions of Spongiolactone Derivatives in Leukemia Cells. Wright, M. H.; Tao, Y.; Drechsel, J.; Krysiak, J.; **Chamni, S.**; Weigert-Munoz, A.; Harvey, N. L.; Romo, D.; Sieber, S. A. Chem. Commun., 2017, 53, 12818-12821.
2. Computational Screening of Fatty Acid Synthase Inhibitors Against Thioesterase Domain. Panman, W.; Nutho, B.; **Chamni, S.**; Dokmaisrijan, S.; Kungwan, N.; Rungrotmongkol, T. J Biomol Struct Dyn. 2017, Nov 21. 1-29.
3. Apoptosis-inducing Effect of Hydroquinone 5-O-Cinnamoyl Ester Analog of Renieramycin M on Non-small Cell Lung Cancer Cells. Maiuthed, A.; Pinkhien, T.; **Chamni, S.**; Suwanborirux, K.; Saito, N.; Petpiroon, N.; Chanvorachote, P. Anticancer Res. 2017, 37, 6259-6267.

4. Chemistry of Renieramycins. 17. A New Generation of Renieramycins: Hydroquinone 5-O-Monoester Analogues of Renieramycin M as Potential Cytotoxic Agents against Non-Small-Cell Lung Cancer Cells, **Chamni, S.**; Sirimangkalakitti, N.; Chanvorachote; Saito, N.; Suwanborirux, K. J. Nat. Prod., 2017, 80, 1541–1547.
5. Karnsomwan, W. Rungrotmongkol, T., De-Eknamkul, W., **Chamni, S.** 2016. In silico structural prediction of human steroid 5α-reductase type II. Med. Chem. Res., 25, (6):1049-1056
6. Bishydroquinone Renieramycin M Induces Apoptosis of Human Lung Cancer Cells Through a Mitochondria-dependent Pathway, Pinkhien, T.; Maiuthed, A.; **Chamni, S.**; Suwanborirux, K.; Saito, N.; Chanvorachote, P. Anticancer Res. 2016, 12, 6327-6333.
7. Potential Anti-metastasis Natural Compounds for Lung Cancer, Chanvorachote, P.; **Chamni, S.**; Ninsontia, C.; Phiboonchaiyanan, P. P. Anticancer Res. 2016, 36: 5707-5717.
8. Chemistry of Renieramycins. 15. Synthesis of 22-O-Ester Derivatives of Jorunnamycin A and Their Cytotoxicity against Non-Small-Cell Lung Cancer Cells, Sirimangkalakitti, N.; **Chamni, S.**; Charupant, K.; Chanvorachote, Mori, N.; Saito, N.; Suwanborirux, K. J. Nat. Prod., 2016, 79, 2089-2093.
9. Renieramycin M Sensitizes Anoikis-resistant H460 Lung Cancer Cells to Anoikis, Sirimangkalakitti, N.; **Chamni, S.**; Suwanborirux, K.; Chanvorachote, P. Anticancer Res. 2016, 36, 1665-1671.
10. In Silico Structural Prediction of Human Steroid 5α-Reductase Type II. Karnsomwan, W.; Rungrotmongkol, T.; De-Eknamkul, W.; **Chamni, S.** Med. Chem. Res., 2016, 25, 1049-1056.
11. Synthesis and Absolute Configuration of Acanthodendrilline, a New Cytotoxic Bromotyrosine Alkaloid from the Thai Marine Sponge Acanthodendrilla sp. Sirimangkalakitti, N.; Yokoya, M.; **Chamni, S.**; Chanvorachote, P.; Plubrukrn, A.; Saito, N.; Suwanborirux, K. Chem. Pharm. Bull., 2016, 64, 258-262.
12. Bromotyrosine Alkaloids with Acetylcholinesterase Inhibitory Activity from the Thai Sponge Acanthodendrilla sp., Sirimangkalakitti, N.; Olatunji, O. J.; Changwichit, K.; Saesong, T.; **Chamni, S.**; Chanvorachoted, P.; Ingkaninan,

K.; Plubrukarnb; A.; Suwanborirux, K. Nat Prod Commun, 2015, 11, 1945-1949.

13. Synthesis of (±)-Spongiolactone Enabling Discovery of a More Potent Derivative. Harvey, N. L.; **Chamni, S.**; Cho, S-W. ; Romo, D. Chem. Eur. J., 2014, 21, 1425-1428.
14. Influenza virus and current anti-influenza drugs. **Chamni, S.** Thai Science and Technology Journal 2014, 22, 258-271.
15. Recent progress and challenges in the discovery of new neuraminidase inhibitors. **Chamni, S.**; De-Eknamkol, W. Expert Opin. Ther. Patents 2013, 23, 409-423.
16. Diazo Reagents with Small Steric Footprints for Simultaneous Arming/SAR Studies of Alcohol-Containing Natural Products via O–H Insertion. **Chamni, S.**; Dang, Y.; He, Q-L.; Bhat, S.; Liu, J. O.; Romo, D. ACS Chem. Biol. 2011, 6, 1175-1181.
17. Beta-Lactam Congeners of Orlistat as Inhibitors of Fatty Acid Synthase. Zhang, W.; Richardson, R. D.; **Chamni, S.**; Smith, J. W.; Romo, D. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008, 28, 2491-2494.