รายงานการวิจัย

เรื่อง

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของพืชสมุนไพรไทยจากอุทยานแห่งชาติปางสีดา

(Cytotoxicity of medicinal plants from Pangsrida National Park)

จัดทำโดย

อาจารย์ ดร. จรรยา ชัยเจริญพงศ์

นางทรงจันทร์ ภู่ทอง

นายอณุมาศ บัวเขียว

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีงบประมาณ 2554

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2553 และ 2554

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณสายยน ใหญ่กระโทก สำหรับการจัดหาพืชตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิจัย และรองศาสตราจารย์ ดร. ชัยโย ชัญชาญทิพยุทธ สำหรับคำแนะนำและการพิสูจน์ชนิดของพืชที่ใช้ในงานวิจัย

บทคัดย่อ

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของพืชสมุนไพรที่เก็บตัวอย่างมาจากอุทยานแห่งชาติปางสีดา จำนวน 40 ชนิด สามารถคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้จำนวน 13 ชนิด ได้แก่ อ้อยสามสวน (ใบ), คัดเค้าป่า (ใบ), มะก่อง (ทั้งใบและกิ่ง), มะก่องใหญ่ (ใบ), ข้าวหลาม (ใบ), ตาเสือ (ทั้งใบและกิ่ง), คนทีสอ (กิ่ง), รางโดน (ใบ), เขียวพุ่ม (ใบ), ตะโกป่า (ใบ), ขานาง (ผล), พันชาด (ใบ) และ พลองขี้ควาย (ใบ)

สารสกัดหยาบเอทานอลจากใบมะก่องขม (*Aglaia elaeagnoidea* (A. Juss.) Benth.) ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุดจึงถูกเลือกนำมาแยกและหาสารบริสุทธิ์เพื่อทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง พบสาร MKE4F-2 (8.5 มิลลิกรัม, 0.004% ของน้ำหนักใบอบแห้ง), สาร MKE4H-4 (2.6 มิลลิกรัม, 0.001% ของน้ำหนักใบอบแห้ง), สาร MKE4I-4 (11.6 มิลลิกรัม, 0.005% ของน้ำหนักใบอบแห้ง) และ MKE6F-5 (14.6 มิลลิกรัม, 0.007% ของน้ำหนักใบอบแห้ง) จากส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตของใบมะก่องขม และเมื่อพิสูจน์ทราบโครงสร้างพบว่าสาร MKE4F-2 และ MKE6F-5 คือสาร 5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one (5-demethyltangeretin) และ triterpenoid ตามลำดับ สำหรับสาร MKE4H-4 และสาร MKE4I-4 เป็นสารผสม ซึ่งสารที่แยกออกมาได้ทั้งสี่ตัวนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดได้ดี โดยสาร MKE4F-2 สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง Chago ได้ดีที่สุดจากการทดสอบด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.70 μg/ml และ สาร MKE4H-4 สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง Hep-G2, BT474 และ KATO-III ได้ดีที่สุดจากการทดสอบด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.30, 3.28 และ 0.06 μg/ml ตามลำดับ สำหรับผลการทดสอบกับเซลล์มะเร็ง SW620 สารทั้งสี่ตัวให้ค่า IC_{50} น้อยกว่า 0.001 μg/ml ซึ่งน้อยกว่าค่า IC_{50} ของ Doxorubicin 90 เท่าเป็นอย่างน้อย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาจนำมาพัฒนาเป็นยาในการรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ในอนาคต

Abstract

40 Medicinal plants from Pangsrida National park were tested for cytotoxicity against cancer cell line. 13 Medicinal plants; Aoisamsuan (leaf), Kudkaopa (leaf), Makong (leaf and stem), Makongyai (leaf), Khaolam (leaf), Tasae (leaf and stem), Konteso (stem), Rangdon (leaf), Keawpum (leaf), Takopa (leaf), Khanang (fruit), Punchad (leaf) and Plongkeekwai (leaf); were showed cytotoxicity against cancer cell line.

Ethanol extract of *Aglaia elaeagnoidea* (A. Juss.) Benth. showed strongest cytotoxicity activity. It was separated to obtain 4 fraction; MKE4F-2 (8.5 mg, 0.004% w/w of dried leaf), MKE4H-4 (2.6 mg, 0.001% w/w of dried leaf), MKE4I-4 (11.6 mg, 0.005% w/w of dried leaf) and MKE6F-5 (14.6 mg, 0.007% w/w of dried leaf) from ethyl acetate extract. MKE4F-2 and MKE6F-5 are 5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one (5-demethyltangeretin) and triterpenoid, respectively but MKE4H-4 and MKE4I-4 are mixture. All of them showed strong cytoxicity against cencer cell line. MKE4F-2 showed strongest activity against Chago cancer cell line with IC_{50} 0.70 μg/ml, MKE4H-4 showed strongest activity against Hep-G2, BT474 and KATO-III with IC_{50} 0.30, 3.28 and 0.06 μg/ml, respectively. All of separated compounds showed strong activity against SW620 with $IC_{50} < 0.001$ μg/ml, less than IC_{50} of Doxorubicin 90 times. The results indicated that compounds extracted from *A. elaeagnoidea* may be developed to be colon cancer drug in the future.

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ช
บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1
ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
ทฤษฎีและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	7
วิธีดำเนินการวิจัย	8
สารเคมี วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัย	8
วิธีการดำเนินการวิจัย	9
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย	12
สรุปและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานวิจัยในขั้นต่อไป	28
บรรณานุกรม	30
ภาคผนวก	32
ประวัติคณะผู้วิจัย	36

สารบัญตาราง

ตารางที่	ชื่อตาราง	หน้า
1	อุบัติการณ์ของโรคมะเร็งจำแนกตามเพศ	2
2	อวัยวะที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง 10 อันดับแรก	2
3	ประโยชน์ของสารสำคัญในผักและผลไม้ชนิดต่างๆ	5
4	รายชื่อพืชสมุนไพรและส่วนที่ใช้ในงานวิจัย	9
5	ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรด้วยวิธี MTT colorimetric assay	14
6	ผลการทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50})	18
7	ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดมะก่องขมด้วยวิธี MTT colorimetric assay	19
8	ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดเอทิลอะซิเตตที่แยกได้	20
9	ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดมะก่องขมด้วยวิธี MTT colorimetric assay	21
10	ลักษณะและน้ำหนักของสาร MKE4A-L ที่แยกได้	21
11	ลักษณะและน้ำหนักของสารที่แยกได้จากแฟรกชั่น MKE4F, MKE4H และ MKE4I	22
12	ลักษณะและน้ำหนักของสาร MKE6A-K ที่แยกได้	23
13	ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จาก MKE4 และ MKE6 ด้วยวิธี MTT colorimetric assay	24
14	โปรตอน NMR ของสาร MKE4F-2 และ 5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one	25

สารบัญภาพ

ภาพที่	ชื่อภาพ	หน้า
1	แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของการแพทย์แบบเสริมประสานและการแพทย์ทางเลือก	3
2	สูตรโครงสร้างของสาร MKE4F-2	25
3	แสดงลักษณะของส่วนต่างๆ ของมะก่องขม ก) ใบมะก่องขม ข) ดอกของมะก่องขม ค) ผลสุกมะก่องขม และ ง) ต้นมะก่องขม	26
4	สเปกตรัม ^{1}H NMR ของสาร MKE4F-2	32
5	สเปกตรัม ^{13}C NMR ของสาร MKE4F-2	33
6	สเปกตรัม ^{1}H NMR ของสารMKE6F-5	34
7	สเปกตรัม ^{13}C NMR ของสารMKE6F-5	35

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

μg	ไมโครกรัม
BT474	human breast ductal carcinoma ATCC no. HTB 20
CAM	การแพทย์แบบเสริมประสานและการแพทย์ทางเลือก
CCD-986 SK	human skin fibroblast ATCC no. CRL 1947
CO_2	คาร์บอนไดออกไซด์
ED_{50}	effective dose 50 (amount of a substance required to produce a specific effect in half of an animal population comprising a test sample)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
FCS	fetal calf serum
Hep-G2	human liver hepatoblastoma ATCC no. HB 8065
Hs27	human foreskin fibroblast ATCC no. CRL 1634
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration (amount of a compound to inhibit biological or biochemical function)
Kato-III	human gastric carcinoma ATCC no. HTB 103
mg	มิลลิกรัม
MKE	สารสกัดเอทิลอะซิเตตของใบมะก่องขม
ml	มิลลิลิตร
MTT assay	3-(4,5-dmethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay
NMR	Nuclear magnetic resonance
OD	ค่าการดูดกลืนแสง
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium
SW620	human colon adenocarcinoma ATCC no. CCL 227
WST assay	water soluble tetrazolium assay

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันโรคมะเร็งเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศ เนื่องจากเป็นสาเหตุของการตายอันดับหนึ่งของคนไทย โดยมีอัตราการเสียชีวิตมากกว่าโรคหัวใจ โรคเอดส์ และอุบัติเหตุ เป็นที่ทราบกันดีว่าเมื่อเป็นโรคมะเร็งแล้ว รักษาหายยาก เนื่องจากผู้ป่วยมักรู้ตัวว่าเป็นโรคมะเร็งเมื่อมีอาการมากแล้ว และยังสร้างความทุกข์ทรมานให้กับผู้ป่วยและครอบครัวอีกด้วย อย่างไรก็ดีการหลีกเลี่ยงและการป้องกันเป็นสิ่งที่ดีที่จะลดภาวะเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง แต่สำหรับผู้ที่เป็นโรคมะเร็งแล้ว ไม่ควรที่จะท้อแท้ใจเพราะผู้ป่วยสามารถมีชีวิตยืนยาวต่อไปได้ ถ้ารู้จักดูแลตนเอง ซึ่งปัจจุบันมีวิธีการดูแลด้วยศาสตร์ทางการแพทย์หลายๆ ศาสตร์ ได้แก่ การแพทย์แผนปัจจุบัน การแพทย์แผนไทย การแพทย์ทางเลือก และการแพทย์แบบเสริมประสาน (Complementary Medicine) การใช้สมุนไพรที่มีสรรพคุณเกี่ยวกับการป้องกันและรักษาโรคมะเร็งก็เป็นทางเลือกหนึ่ง ไม่ว่าจะเป็นการรับประทานอาหารสมุนไพรเพื่อป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง หรือการใช้ยาจากสมุนไพรในการรักษาและดูแลประคับประคองผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น ซึ่งยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งของการแพทย์แผนปัจจุบันก็สกัดมาจากพืชสมุนไพร เช่น แพงพวยฝรั่ง หญ้างวงช้าง เป็นต้น

งานวิจัยนี้จะศึกษาคุณสมบัติในการแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของพืชสมุนไพรไทยจำนวน 40 ชนิด ที่เก็บตัวอย่างมาจากอุทยานแห่งชาติปางสีดา ซึ่งตั้งอยู่ในพื้นที่ของจังหวัดสระแก้วและจังหวัดปราจีนบุรี อุทยานแห่งชาติปางสีดาแห่งนี้เป็นป่าดิบชื้นที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์ มีความหลากหลายทางชีวภาพ ทั้งพืชพรรณและสัตว์ป่านานาชนิด เซลล์มะเร็งที่จะใช้ในงานวิจัยนี้มีทั้งหมด 5 ชนิด คือ SW620 (human colon adenocarcinoma ATCC no. CCL 227) BT474 (human breast ductal carcinoma ATCC no. HTB 20) Kata-III (human gastric carcinoma ATCC no. HTB 103) Hep-G2 (human liver hepatoblastoma ATCC no. HB 8065) และ Chago (human undifferentiated lung carcinoma) และทำการทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานยารักษาโรคมะเร็ง คือ doxorubicin จากนั้นจะนำพืชสมุนไพรที่ให้ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุดจากการคัดกรองมาสกัดและแยกเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารบริสุทธิ์นั้น พร้อมทั้งพิสูจน์โครงสร้างของสารนั้นด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อคัดกรองพืชสมุนไพรไทยจากอุทยานแห่งชาติปางสีดาที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ มะเร็ง

2) เพื่อพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่สกัดและแยกได้จากพืชสมุนไพรที่ให้ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุดจากการคัดกรอง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

คัดกรองพืชสมุนไพรจำนวน 40 ชนิด ที่เก็บตัวอย่างมาจากอุทยานแห่งชาติปางสีดา เพื่อหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง จากนั้นทำการสกัดและแยกสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งจากพืชสมุนไพรที่ให้ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุดจากการคัดกรอง และพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารที่แยกได้

ทฤษฎีและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

อุบัติการณ์ของการเกิดโรคมะเร็งส่วนใหญ่พบว่าเกิดในเพศชายมากกว่าเพศหญิง ดังแสดงในตารางที่ 1 อีกทั้งยังมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งน่าจะเกิดจากปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อภาวะสุขภาพของมนุษย์

ตารางที่ 1 อุบัติการณ์ของโรคมะเร็งจำแนกตามเพศ

พ. ศ.	เพศชาย (คน)	เพศหญิง (คน)
2533	29195	28773
2536	32801	30940
2539	35539	38467
2545	48380	46727

นอกจากนี้อวัยวะที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งยังมีความแตกต่างกันในแต่ละเพศ โดยเพศชายและเพศหญิงมีอวัยวะที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง 10 อันดับแรกแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อวัยวะที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง 10 อันดับแรก

ลำดับที่	เพศชาย	เพศหญิง
1	ตับ	ปากมดลูก
2	ปอด	เต้านม
3	ลำไส้ใหญ่	ตับ
4	ช่องปาก	ปอด
5	ต่อมลูกหมาก	ลำไส้ใหญ่
6	กระเพาะปัสสาวะ	รังไข่
7	ต่อมน้ำเหลือง	ช่องปาก
8	ผิวหนัง	ต่อมไทรอยด์
9	กระเพาะอาหาร	ผิวหนัง
10	มะเร็งเม็ดเลือดขาว	มะเร็งเม็ดเลือดขาว

ปัจจัยในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง

วิธีที่ดีในการหลีกเลี่ยงปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็ง คือ การดูแลสุขภาพของตนเองเพื่อป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยต้องหมั่นสำรวจตนเอง รู้สัญญาณเตือนภัยของอาการมะเร็งระยะเริ่มแรก เช่น น้ำหนักลดผิดปกติ หูดหรือไฝโตผิดปกติ มีแผลเรื้อรัง หรือปวดศีรษะเรื้อรังบ่อยๆ เป็นต้น รู้จักหลีกเลี่ยงปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังต้องรู้จักการออกกำลังกาย การคลายความเครียดที่เหมาะสม การตรวจเต้านมด้วยตนเอง การตรวจสุขภาพประจำปี เช่น การตรวจ Pap smear การตรวจ Mammogram เป็นต้น แต่สำหรับผู้ที่เป็นโรคมะเร็งแล้ว ไม่ควรที่จะท้อแท้ใจเพราะผู้ป่วยสามารถมีชีวิตยืนยาวต่อไปได้ ถ้ารู้จักดูแลตนเอง ซึ่งปัจจุบันมีวิธีการดูแลด้วยศาสตร์ทางการแพทย์หลายๆ ศาสตร์ ได้แก่ การแพทย์แผนปัจจุบัน การแพทย์แผนไทย การแพทย์ทางเลือก และการแพทย์แบบเสริมประสาน (Complementary Medicine) ปัจจุบันมีการนำศาสตร์ต่างๆ มารวมกันเพื่อเป็นทางเลือกของผู้ป่วยให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นโดยใช้ชื่อว่า การแพทย์แบบเสริมประสานและการแพทย์ทางเลือก (Complementary Alternative Medicine) ประกอบด้วยการบำบัดต่างๆ ดังนี้

ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของการแพทย์แบบเสริมประสานและการแพทย์ทางเลือก

บทบาทของสมุนไพรกับโรคมะเร็ง

กำเนิดของโรคมะเร็งก่อให้เกิดผลกระทบต่อมนุษยชาติ (Itharat A. and Ooraikul B., 2007) จากข้อมูลทางสถิติพบว่าการเกิดโรคมะเร็งมีมากขึ้นและมีโอกาสรักษาหายยากในมะเร็งบางชนิด ดังนั้นสมุนไพรที่มีสรรพคุณเกี่ยวกับโรคมะเร็ง จึงเป็นทางเลือกหนึ่งไม่ว่าจะเป็นการรับประทานอาหารสมุนไพรเพื่อป้องกันการเกิดมะเร็ง หรือการใช้ยาจากสมุนไพรในการรักษาและดูแลประคับประคองผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น ซึ่งแม้แต่การแพทย์แผนปัจจุบันยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งก็สกัดมาจากพืชสมุนไพรเช่น

แพงพวยฝรั่ง (Noble, R.L. 1990) หญ้างวงช้าง (Kugelman M., et al. 1976) เป็นต้น ประเด็นที่เกี่ยวข้องของสมุนไพรกับมะเร็งประกอบด้วยสมุนไพร 3 กลุ่ม ดังนี้

1. สมุนไพรเพื่อการรักษาโรคมะเร็ง

ในการศึกษาวิจัยสมุนไพรเพื่อนำไปสู่ยารักษาโรคมะเร็ง ต้องศึกษาถึงเรื่องแหล่งที่มาของสมุนไพร กลไกการออกฤทธิ์ต้านมะเร็ง การทดสอบคุณสมบัติต้านมะเร็ง สมุนไพรไทยที่อยู่ในกลุ่มที่สามารถนำมาศึกษาวิจัยการฆ่าเซลล์มะเร็ง ได้แก่

สมุนไพรไทยที่มีประวัติรักษามะเร็ง เช่น หญ้าหนูต้น ชิงชี่ กระเม็ง ทองพันชั่ง ไม้แดง

สมุนไพรไทยที่มีประวัติเบื่อสุนัข และเบื่อหนู เช่น ตูมกาขาว ปอหวาน แสลงพันเถา แสลงใจ ดองดึง

สมุนไพรไทยที่มีประวัติเป็นยาฆ่าแมลง เช่น น้อยหน่า สะเดาอินเดีย สามสิบกีบ โล่ติ๊น

สมุนไพรไทยที่มีประวัติเบื่อปลา เช่น มังตาน โล่ติ๊น กลอยป่า ตีนเป็ดทะเล

สมุนไพรไทยที่มีประวัติขับพยาธิ เช่น มะค่าโมง น้อยโหน่ง มะเกลือ คงคาเดือด ไฟเดือนห้า

สมุนไพรไทยที่มีประวัติลูกดอกอาบยาพิษ เช่น เครือน่อง

นอกจากนั้นยังมีการกล่าวถึง พิษงูจงอาง นมผึ้ง เห็ดหลินจือ ปลาไหลเผือก สบู่ดำ ต้นชา ใบชา หญ้าปักกิ่ง ว่าสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีเช่นกัน

สมุนไพรในต่างประเทศ เช่น ในประเทศญี่ปุ่น กล่าวถึงเห็ดหลินจือว่ามีสรรพคุณบำรุงร่างกาย รักษามะเร็ง และเจริญอาหาร ในประเทศไต้หวันกล่าวถึงเห็ดหลินจือว่ามีสรรพคุณรักษาตับอักเสบ มะเร็ง และเป็นยาอายุวัฒนะ ในประเทศจีนกล่าวถึงเห็ดหลินจือว่ามีสรรพคุณแก้ไข้ บำรุงตับ และเป็นยาอายุวัฒนะ

2. สมุนไพรเพื่อการดูแลผู้ป่วยแบบประคับประคอง สู่คุณภาพชีวิตที่ดี

ผู้ป่วยที่มีอาการของโรคมะเร็งระยะที่ลุกลามแล้วมักมีอาการที่ก่อให้เกิดความทุกข์ทรมาน เช่น กระสับกระส่าย กลืนอาหารลำบาก คลื่นไส้อาเจียน ซึด ซึมเศร้า ตัวเหลืองตาเหลือง ท้องผูก ท้องเสีย มีน้ำในช่องท้อง มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด นอนไม่หลับ บวมบริเวณลำตัว เบื่ออาหาร ปวด มีแผลกดทับ มีแผลจากมะเร็ง มีเลือดออก ไอ อ่อนเพลีย อัมพาต เครียด และไม่สุขสบาย เป็นต้น อาการเหล่านี้ทำให้ผู้ป่วยโรคมะเร็งท้อแท้ เจ็บปวด ทรมาน ยาสมุนไพรจึงมีบทบาทสำคัญและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยในการประคับประคองอาการ และลดความเจ็บปวดให้แก่ผู้ป่วยได้ ซึ่งแบ่งสมุนไพรเป็น 2 ประเภท คือ

ก) สมุนไพรที่ช่วยบรรเทาอาการ (Palliative Care) มีสรรพคุณแก้ไข้ แก้ปวด บำรุงหัวใจ บำรุงประสาท แก้เครียด ได้แก่ ขี้เหล็ก ไฟเดือนห้า จัน กระทิง เหมือดโลด

ข) สมุนไพรที่ช่วยเพิ่มภูมิต้านทาน (Immunopotentiating Agent) มีประวัติเป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำลัง บำรุงร่างกาย รักษาโรคจากเชื้อไวรัส ได้แก่ กระเช้าถุงทอง กระโดน สามสิบ ใบระบาด พลับพลึง มะระขี้นก ลูกใต้ใบ

3. สมุนไพรเพื่อการป้องกันมะเร็ง

อาหารจำพวกพืช ผัก และผลไม้เป็นสมุนไพรต้านมะเร็ง เนื่องจากอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ และสารต้านอนุมูลอิสระ การรับประทานอาหารที่หลากหลายในแต่ละวันสามารถต้านมะเร็งได้ ซึ่งผักและผลไม้เป็นอาหารที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง และสามารถลดขนาดของเนื้องอกได้ ดังเช่นผักและผลไม้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ประโยชน์ของสารสำคัญในผักและผลไม้ชนิดต่างๆ

ชนิดผักและผลไม้	สารสำคัญ	ประโยชน์
กะหล่ำดอก	sulphoraphane	ลดการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งทวารหนัก ลดการเจริญของเนื้องอกในหนูทดลอง
กะหล่ำปลี	indole-3-carbinol	ป้องกันมะเร็ง
กระเทียม	dially sulphide	ช่วยเพิ่มภูมิต้านทานต่อสู้กับมะเร็ง ทำให้การเจริญเติบโตของมะเร็งที่กระเพาะอาหารช้าลง
ขมิ้นชัน	curcuminoids	ป้องกันมะเร็งลำไส้ / ลำไส้ใหญ่
ขิง	gingerol	ช่วยป้องกันมะเร็ง
แครอท	beta-carotene	ช่วยต้านมะเร็งปอด มะเร็งลำคอ มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้ มะเร็งเต้านม มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ และมะเร็งต่อมลูกหมาก
ถั่ว	quercetin/kaempferol selenium	มีสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง และลดการเกิดมะเร็งที่ต่อมลูกหมาก
พริก	capsaicin	ลดการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร
บร็อกคาลี่	indole-3-carbinol	ลดการเกิดมะเร็งเต้านม
มะเขือเทศ	lycopene, vitamin C	ช่วยลดการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งตับอ่อน มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก และมะเร็งเต้านม
มะเดื่อหวาน	benzaldehyde	ฆ่าแบคทีเรีย และทำให้เซลล์มะเร็งลดลง
มะละกอ	vitamin C, vitamin A, folic acid	ยับยั้งการเกิดมะเร็งปากมดลูก
ผลไม้จำพวกส้ม	vitamin C, beta-carotene, folic acid, monoterpenes	ช่วยกวาดล้างสารมะเร็ง และยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม
เห็ด	lentinan, betaglucan, lectin, thioproline	เพิ่มภูมิคุ้มกัน และช่วยลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง
องุ่น	resveratrol, bioflavonoids	ป้องกันมะเร็ง
อโวคาโด	glutathione, beta-carotene	ต้านมะเร็งตับ

การดูแลสุขภาพตนเองจึงเป็นสิ่งที่สำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันให้ตนเองห่างไกลจากโรคมะเร็ง หรือแม้กระทั่งหากเป็นโรคแล้ว การดูแลรักษาสุขภาพยิ่งจำเป็นมากขึ้นเพื่อประคับประคองคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยให้ดีขึ้น การรู้จักนำสิ่งที่มีคุณค่าใกล้ตัว และเป็นภูมิปัญญาของบรรพบุรุษที่สืบทอดกันมาดังเช่นสมุนไพรไทยมาช่วยดูแลสุขภาพนั้น จึงควรได้รับการส่งเสริมและสนับสนุน เพื่อการดูแลสุขภาพแบบองค์รวม เป็นการเพิ่มทางเลือกให้ผู้ป่วยมะเร็งมีโอกาสยืดชีวิตอย่างมีคุณภาพต่อไป

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotcxicity) คือค่าปริมาณความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยทั่วไปวัดได้ด้วยวิธี MTT assay, Trypan blue assay, Sulforhodamine B assay, WST assay และ Clonogenic assay ซึ่งการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เป็นวิธีมาตรฐานที่เสียค่าใช้จ่ายไม่มากนักและให้ผลที่เชื่อถือได้ สารที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหมายถึงสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งพบรายงานการวิจัยของพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเช่นนี้ แต่รายงานการวิจัยส่วนใหญ่จะศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร มีส่วนน้อยที่รายงานการแยกสารบริสุทธิ์จากสมุนไพรพร้อมฤทธิ์ของสารนั้น (Mahidol C., et al. 2002) ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของพืชสมุนไพรไทยบางส่วนมีรายละเอียดดังนี้

วีณา จิรัจฉริยากูล และคณะศึกษาพบสาร glycosphingolipid ที่สกัดจากหญ้าปักกิ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ในหลอดทดลอง(Jiratchariyakul W., et al., 1998)

สาคร พรประเสริฐและคณะทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวของหญ้าปักกิ่ง โดยสกัดด้วยน้ำหรือเอทานอลร้อยละ 80 ที่ความเข้มข้นต่างๆ (50–400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยใช้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว 5 ชนิด ได้แก่ Promyelocytic leukemia (HL60), T-cell leukemia (Molt 4), B-cell leukemia (Daudi), Monocytic leukemia (U937) และ Erythroleukemia (K562) พบว่าหญ้าปักกิ่งทั้งที่สกัดด้วยน้ำ และเอทานอลร้อยละ 80 ในทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทุกชนิดที่นำมาทดสอบ (สาคร พรประเสริฐ และคณะ, 2544)

Moongkarndi P. และคณะศึกษา antiproliferative activity ของสารสกัดเอทานอลของสมุนไพร 9 ชนิด คือ *Garcinia mangostana* L., *Phyllanthus amarus* Schum., *Passiflora foetida* L., *Ardisia elliptica* Thunb., *Morinda citrifolia* L., *Aegle marmelos* (L.) Corr., *Heliotropium indicum* L., *Stephania venosa* Spreng. และ *Thunbergia laurifolia* L. ต่อเซลล์ SKBR3 ซึ่งเป็น human breast adenocarcinoma cell line ด้วยวิธี MTT assay พบว่าสารสกัดเอทานอลของ *G. mangostana* L. ให้ผลการทดสอบดีที่สุด แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 15.45 ± 0.50 µg/ml (Moongkarndi P., et al., 2004)

สุนันท์ ชัยนะกุล และคณะศึกษาสารสกัดที่แยกได้จากหญ้าสาบกา (*Hygrophila incana* nees.) พบสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตตมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลิวคีเมีย (P388) ด้วยค่า ED_{50} เท่ากับ 15.42 µg/ml สารสกัดชั้นเฮกเซนและเมทานอล แสดงค่า ED_{50} มากกว่า 30 µg/ml และจากการแยกสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตตพบสาร betulinic acid ซึ่งแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลิวคีเมีย (P388) ด้วยค่า ED_{50} เท่ากับ 11.50 µg/ml และแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ด้วยค่า ED_{50} เท่ากับ 20.60 µg/ml (สุนันท์ ชัยนะกุล และ คณะ, 2005)

Bunpo P. และคณะ รายงานการวิจัยของสารสกัดน้ำของ *Centella asiatica* ออกฤทธิ์ยับยั้ง Caco-2 human colon cancer cells ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 1 mg/ml (Bunpo P., et al., 2005)

Saetung, A. และคณะทดสอบสารสกัดน้ำและเอทานอลของพืชสมุนไพร 12 ชนิด ได้แก่ ใบมะกา เหง้าขมิ้นอ้อย เถาวัลย์เปรียง หัวมันหมู รากกระแตไต่ไม้ ลำต้นซาด ฝักมะรุม ดอกโกฐชฎามังษี รากทองพันชั่ง ผลมะคำดีควาย หัวข้าวเย็นใต้ และเมล็ดแสลงใจ กับเซลล์มะเร็งปอด และเซลล์มะเร็งต่อม

ลูกหมาก พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบมะกา เหง้าขมิ้นอ้อย เถาวัลย์เปรียง หัวข้าวเย็นใต้ รากทองพันชั่ง มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด (IC_{50} < 30 μg/ml) โดยที่สารสกัดเอทานอลของหัวข้าวเย็นใต้มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งปอดสูงสุด มีค่า IC_{50} = 4.6 μg/ml และสารสกัดของเอทานอลของรากทองพันชั่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากดีที่สุด มีค่า IC_{50} = 2.01 μg/ml (Saetung A., et al., 2005)

Umehara K และคณะรายงานการพบสารใหม่ 8 ตัว ได้แก่ khrinones A, khrinones B, khrinones C, khrinones D, khrinones E, isodarparvinol B, dalparvin และ (3S)-sativanone พร้อมกับสารที่ค้นพบแล้ว 32 ตัวจากเนื้อไม้ของต้นกระซิก และฤทธิ์การยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 และ T47D (Umehara K., et al., 2009)

Wiratchanee Mahavorasirikul และคณะศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบเอทานอลของพืช 28 ชนิด และตำรับยาไทย 5 ตำรับ ด้วยเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ human cholangiocarcinoma (CL-6), human laryngeal (Hep-2), and human hepatocarcinoma (HepG2) โดยวิธี MTT assay และใช้สาร 5-fluorouracil เป็นสารเปรียบเทียบผลบวก (Mahavorasirikul W., et al., 2010)

สุพัตรา ชวลิตพงษ์และคณะศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรไทยในกลุ่มยาอายุวัฒนะจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ตะโกนา กาลังวัวเถลิง กวาวเครือแดง แห้วหมู ข่อย ขันทองพยาบาท กำลังเสือโคร่ง กันเกรา บอระเพ็ด และคนทีสอ ต่อเซลล์มะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่มีตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (MDA-MB-231) โดยใช้เทคนิค MTT assay พบว่าสารสกัดหยาบของตะโกนามีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งดีที่สุดในกลุ่มที่ทดสอบ สารสกัดหยาบของกาลังวัวเถลิง กวาวเครือแดง แห้วหมู ข่อย และ ขันทองพยาบาท มีฤทธิ์ความเป็นพิษปานกลาง และสารสกัดที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเลย คือ กำลังเสือโคร่ง กันเกรา บอระเพ็ด และคนทีสอ (สุพัตรา ชวลิตพงษ์และคณะ, 2555)

Manosroi J และคณะรายงานการศึกษาการทดสอบพืชสมุนไพรล้านนาในฐานข้อมูล "มโนสร้อย 2" สามารถรักษาโรคและยับยั้งการเกิดมะเร็ง (Manosroi J., et al., 2012)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

องค์ความรู้ที่จะได้จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปเผยแพร่ในงานประชุม/สัมมนาทางวิชาการ และวารสารทางวิชาการได้ นอกจากนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยต่อเนื่องในอนาคตได้ องค์ความรู้ที่ได้สามารถนำไปเผยแพร่แก่บุคคลผู้สนใจในการดูแลเอาใจใส่ต้องสุขภาพเบื้องต้น และอาจเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนายารักษาโรคมะเร็ง

วิธีการดำเนินการวิจัย

สารเคมี วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัย

<u>สารเคมี</u>

1. ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน เอทิลอะซิเตต เมทานอล เอทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์
2. อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640
3. สารละลาย MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
4. Trypsin-EDTA
5. glycine buffer pH 10.4
6. ซิลิกาเจล
7. ซีรัมลูกวัว (fetal calf serum)

<u>วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์</u>

1. แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี
2. เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator)
2. เครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง (frecze dryer)
3. เครื่องวัดการดูดกลืนแสงยูวี (UV-Vis spectrometer)
4. Nuclear magnetic resonance spectrometer
5. Mass spectrometer
6. กล้องจุลทรรศน์ (inverted microscope)
7. ตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส 5% คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubator)
8. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar Flow)
9. เครื่องปั่นตกตะกอน (centrifuge)
10. ขวดเลี้ยงเซลล์ (tissue culture flask)
11. ถาดเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (tissue culture plate 96 well)
12. ออโตปิเปต (autopipette)
13. ตู้อบ (hot air oven)
14. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
15. ปิเปต
16. เครื่องชั่ง

วิธีการดำเนินการวิจัย

1) เตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรสำหรับการวิจัย

ก) เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรไทยจากอุทยานแห่งชาติป่างสีดา

ข) ล้างพืชสมุนไพรด้วยน้ำให้สะอาด อบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส และบด

ค) สกัดพืชสมุนไพรด้วยเอทานอล โดยใช้อัตราส่วนพืช 100 กรัม ต่อเอทานอล 200 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้หนึ่งคืนที่อุณหภูมิห้อง แยกส่วนกากออกด้วยการกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 สกัดซ้ำ 3 ครั้ง สารละลายที่กรองได้นำมารวมกันแล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ และทำสารสกัดให้แห้งด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry)

ตารางที่ 4 รายชื่อพืชสมุนไพรและส่วนที่ใช้ในงานวิจัย

ลำดับที่	รายชื่อสมุนไพร	ส่วนที่ใช้
1	อ้อยสามสวน	ใบ, กิ่ง
2	คัดเค้าป่า	ใบ, กิ่ง
3	ผิผวน	ใบ, กิ่ง
4	เสือสิบเอ็ดตัว	ใบ, กิ่ง, ราก
5	ตานกกรด	ใบ
6	ผักขวาง	ทั้งต้น
7	กล้วยอีเห็น	ใบ, กิ่ง
8	มะก่องขม	ใบ, กิ่ง
9	มะก่องใหญ่	ใบ
10	หนาวเดือนห้า	กิ่ง
11	โมกโป่ง	ใบ, กิ่ง
12	หนวดแมวต้น	ใบ, กิ่ง
13	เปล้าตีนนก	ใบ, กิ่ง
14	ธรณีเย็น	ใบ, กิ่ง
15	ข้าวหลาม	ใบ, กิ่ง
16	ตาเสือ	ใบ, กิ่ง, ราก
17	ค้างคาวใบเล็ก	ใบ
18	ขอย่าน	ใบ
19	คนทีสอป่า	ใบ, กิ่ง
20	รางโดน	ใบ, กิ่ง
21	เขียวพุ่ม	ใบ, กิ่ง
22	ตะโกป่า	ใบ, กิ่ง

ตารางที่ 4 (ต่อ) รายชื่อพืชสมุนไพรและส่วนที่ใช้ในงานวิจัย

ลำดับที่	ชื่อพืชสมุนไพร	ส่วนที่ใช้
23	ขานาง	ใบ, กิ่ง, ผล
24	แดง	ใบ
25	มะค่าแต้	ใบ
26	มะค่าโมง	ใบ
27	ยอป่า	ใบ
28	พันชาด	ใบ
29	ฝนแสนห่า	ใบ
30	นมพิจิตร	ใบ
31	โมกมัน	ใบ
32	หนามกลาย	ใบ
33	ผักหวานเมา	ใบ
34	ก่อแพะ	ใบ
35	ตดหมูตดหมา	ใบ
36	พลองขี้ควาย	ใบ
37	พะยอม	ใบ, เปลือกไม้, เนื้อไม้
38	ตับเต่าต้น	ใบ
39	มะดูก	ใบ
40	เจตพังคี	ใบ

2) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรโดยวิธี MTT colorimetric assay โดยใช้เซลล์มะเร็ง 5 ชนิด ดังนี้ SW620 (human colon adenocarcinoma ATCC no. CCL 227), BT474 (human breast ductal carcinoma ATCC no. HTB 20), Kata-III (human gastric carcinoma ATCC no. HTB 103), Hep-G2 (human liver hepatoblastoma ATCC no. HB 8065) และ Chago (human undifferentiated lung carcinoma) เซลล์ปกติที่ใช้ คือ Hs27 (human foreskin fibroblast ATCC no. CRL 1634) และ CCD-986 SK (human skin fibroblast ATCC no. CRL 1947) ทำการทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานยารักษาโรคมะเร็ง คือ doxorubicin

วิธีการทดสอบ MTT colorimetric assay

ก) เลี้ยงเซลล์มะเร็งในขวดเลี้ยงเซลล์ ขนาด 25 มิลลิลิตร ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 ที่ประกอบด้วย 5% FCS ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มี 5% CO_2 และความชื้น จนได้เซลล์ที่เจริญอยู่ในระยะ log phase

ข) ทำการ trypsinization ด้วย 0.05% Trypsin-EDTA และเจือจางเซลล์ให้มีความเข้มข้น 2.5 x 10^4 cell/ml เติมเซลล์ลงในถาดเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม ปริมาตร 200 µl/หลุม เลี้ยงเซลล์ไว้ 1 วัน

ค) เติมสารทดสอบที่มีความเข้มข้น 1 mg/ml ปริมาตร 2 µl/หลุม เลี้ยงเซลล์ไว้เป็นเวลา 3 วัน

ง) เติมสารละลาย MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) เข้มข้น 5 mg/ml ปริมาตร 10 µl/หลุม บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง

จ) ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก จากนั้นเติมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ปริมาตร 150 µl/หลุม และ glycine buffer pH 10.4 ปริมาตร 25 µl แล้วเขย่าถาดเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ผลึก formazan ละลาย

ฉ) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

ช) คำนวณเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็ง (% Cell Survival, PS)

$$\% \text{ cell survival (PS)} = (\text{ODtest} / \text{ODcontrol}) \times 100$$

โดยที่ ODtest = ค่าการดูดกลืนแสงหลุมที่ใส่สารทดสอบ

ODcontrol = ค่าการดูดกลืนแสงหลุมที่ไม่ใส่สารทดสอบ

3) สกัดพืชสมุนไพรที่ให้ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่มีค่าสูงที่สุดจากผลการคัดกรองด้วยเอทานอล เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบปริมาณมาก

4) แยกสารสกัดหยาบด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกันตามลำดับจากน้อยไปหามาก คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และน้ำ ตามลำดับ

5) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด โดยวิธี MTT colorimetric assay

6) แยกสารสกัดตัวทำละลายอินทรีย์ที่ให้ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่มีค่าสูงที่สุดด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และตัวทำละลายอินทรีย์เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ ทำการแยกซ้ำจนได้สารบริสุทธิ์

7) พิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ โดยใช้เทคนิคทางสเปกโตรสโคปีต่าง ๆ เช่น IR NMR MS

8) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ และหาค่า IC_{50} ของสารนั้น โดยวิธี MTT colorimetric assay

9) วิเคราะห์ผล สรุปผล เขียนรายงานการวิจัย

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรทั้ง 40 ชนิด โดยวิธี MTT colorimetric assay

อัตราการรอดของเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดเมื่อทดสอบกับสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรแสดงผลในตารางที่ 5 โดยผู้วิจัยให้นิยามของความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง คือสารสกัดหยาบของพืชที่มีเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็งน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารสกัดหยาบชนิดนั้นสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ งานวิจัยนี้เริ่มด้วยการทดสอบสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรกับเซลล์มะเร็งก่อน หากพบว่าพืชชนิดใดสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ จึงนำสารสกัดหยาบของพืชชนิดนั้นมาทดสอบความเป็นพิษกับเซลล์ปกติ Hs27 และ CCD-986 SK จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจำนวน 13 ชนิด มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและไม่เป็นพิษกับเซลล์ปกติ ได้แก่ อ้อยสามสวน (ใบ), คัดเค้าป่า (ใบ), มะก่อง (ทั้งใบและกิ่ง), มะก่องใหญ่ (ใบ), ข้าวหลาม (ใบ), ตาเสือ (ทั้งใบและกิ่ง), คนทีสอ (กิ่ง), รางโดน (ใบ), เขียวพุ่ม (ใบ), ตะโกป่า (ใบ), ขานาง (ผล), พันชาด (ใบ) และ พลองขี้ควาย (ใบ)

2. ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) ด้วยสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจำนวน 13 ชนิด

จากการทดสอบสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจำนวน 13 ชนิด โดยแปรความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 5 ระดับ คือ 1000, 100, 10, 1 และ 0.1 μg/ml และใช้สารมาตรฐานยารักษาโรคมะเร็ง doxorubicin สำหรับการทดสอบเปรียบเทียบ ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 6 พบว่า สารสกัดหยาบของใบมะก่องขมและใบเขียวพุ่มมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดที่ใช้ ส่วนสารสกัดหยาบของใบข้าวหลามมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 4 ชนิด ได้แก่ BT474, Hep-G2, KATO-III และ SW620 แต่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง Chago ที่ความเข้มข้น มากกว่า 10 μg/ml สารสกัดหยาบของใบอ้อยสามสวน, ใบคัดเค้าป่า, กิ่งมะก่องขม และใบมะก่องใหญ่ มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ Hep-G2, KATO-III และ SW620 สารสกัดหยาบของกิ่งตาเสือมีความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็ง Chago, KATO-III และ SW620 แต่สารสกัดหยาบของใบตาเสือมีความเป็นพิษเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด คือ KATO-III และ SW620 สารสกัดหยาบของกิ่งคนทีสอป่ามีความเป็นพิษเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง BT474 และ Hep- G2 สารสกัดหยาบของใบรางโดน ใบตะโกป่าและใบพันชาด มีความเป็นพิษเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง Hep-G2 และ SW620 สารสกัดหยาบของผลขานางมีความเป็นพิษเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง SW620 เท่านั้น และสารสกัดหยาบของใบพลองขี้ควายมีความเป็นพิษเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง Hep-G2 เท่านั้น สารสกัดหยาบที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง BT474, Chago และ Hep-G2 มากที่สุดจากสารสกัดหยาบพืชสมุนไพรจำนวน 13 ชนิดที่ทดสอบ คือสารสกัดหยาบของใบเขียวพุ่ม มีค่า IC_{50} 6.53, 6.83 และ 4.67 μg/ml ตามลำดับ ส่วนสารเปรียบเทียบ doxorubicin มีค่า IC_{50} 0.53, 0.47 และ 0.60 μg/ml ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KATO-III และ

SW620 มากที่สุดจากการทดสอบ คือสารสกัดหยาบของใบมะก่องขม มีค่า IC_{50} 0.49 และ 0.72 µg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับสาร doxorubicin ซึ่งมีค่า IC_{50} 0.57 และ 0.09 µg/ml ตามลำดับ

จากผลการทดสอบสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจำนวน 40 ชนิดในงานวิจัยนี้ พบว่าสารสกัดหยาบของใบเขียวพุ่มและใบมะก่องขมมีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้มากกว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรชนิดอื่นๆ และจากค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบของใบมะก่องขมที่มีต่อเซลล์มะเร็ง KATO-III เท่ากับ 0.49 µg/ml ซึ่งใกล้เคียงกับค่า IC_{50} ของสารdoxorubicin 0.57 µg/ml ดังนั้นมะก่องขมจึงถูกเลือกที่จะนำมาทำการทดลองในขั้นต่อไป เพื่อแยกหาสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรด้วยวิธี MTT colorimetric assay

ลำดับที่	ชนิดของพืชสมุนไพร (ส่วนที่ใช้) / ชนิดเซลล์มะเร็ง	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็ง (% Cell Survival)						
		BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620	Hs27	CCD-986 SK
1	อ้อยสามสวน (ใบ)	43	84	24	35	24	91	132
	อ้อยสามส วน (กิ่ง)	85	96	85	66	96	nd	nd
2	คัดเค้าป่า (ใบ)	44	81	21	34	26	72	119
	คัดเค้าป่า (กิ่ง)	88	99	68	68	97	nd	nd
3	ผีผวน (ใบ)	80	102	83	98	99	nd	nd
	ผีผวน (กิ่ง)	86	103	81	73	103	nd	nd
4	เสือ 11 ตัว (ใบ)	87	100	81	75	88	nd	nd
	เสือ 11 ตัว (กิ่ง)	87	88	69	67	73	nd	nd
	เสือ 11 ตัว (ราก)	92	99	58	71	101	nd	nd
5	ตานกกรด (ใบ)	75	98	67	69	86	nd	nd
6	ผักขวาง (ทั้งต้น)	85	99	70	76	98	nd	nd
7	กล้วยอีเห็น (ใบ)	45	84	39	46	47	50	100
	กล้วยอีเห็น (กิ่ง)	82	102	90	87	102	nd	nd
8	มะก่องขม (ใบ)	53	42	19	33	17	64	94
	มะก่องขม (กิ่ง)	71	47	38	46	23	68	85

หมายเหตุ nd หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

ตารางที่ 5 (ต่อ) ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรด้วยวิธี MTT colorimetric assay

ลำดับที่	ชนิดของพืชสมุนไพร / ชนิดเซลล์มะเร็ง	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็ง (% Cell Survival)						
		BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620	Hs27	CCD-986 SK
9	มะก่องใหญ่ (ใบ)	42	25	16	28	15	59	80
10	หนาวเดือน 5 (กิ่ง)	86	99	97	94	99	nd	nd
11	โมกโป่ง (กิ่ง + ใบ)	90	99	95	82	96	nd	nd
12	หนวดแมวต้น (กิ่ง + ใบ)	77	94	96	81	70	nd	nd
13	เปล้าตีนนก (ใบ)	33	59	16	25	16	40	53
	เปล้าตีนนก (กิ่ง)	55	88	50	57	68	nd	nd
14	ธรณีเย็น (ใบ)	81	95	89	68	87	nd	nd
	ธรณีเย็น (กิ่ง)	83	99	67	59	100	nd	nd
15	ข้าวหลาม (ใบ)	71	92	54	53	28	77	90
	ข้าวหลาม (กิ่ง)	83	100	69	67	87	nd	nd
16	ตาเสือ (ใบ)	60	63	32	35	23	72	83
	ตาเสือ (กิ่ง)	51	49	30	31	23	66	79
17	ค้างคาวใบเล็ก (ใบ)	60	91	65	60	63	nd	nd
18	ยอย่าน (ใบ)	85	81	82	83	109	nd	nd
19	คนทีสอป่า (ใบ)	74	100	75	70	103	nd	nd
	คนทีสอป่า (กิ่ง)	34	81	19	33	36	102	118

หมายเหตุ nd หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

ตารางที่ 5 (ต่อ) ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรด้วยวิธี MTT colorimetric assay

ลำดับที่	ชนิดของพืชสมุนไพร / ชนิดเซลล์มะเร็ง	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็ง (% Cell Survival)						
		BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620	Hs27	CCD-986 SK
20	รางโดน (ใบ)	73	82	35	30	18	57	102
	รางโดน (กิ่ง)	71	100	67	60	103	nd	nd
21	เขียวพุ่ม (ใบ)	34	82	18	24	23	103	116
	เขียวพุ่ม (กิ่ง)	52	98	64	72	100	nd	nd
22	ตะโกป่า (ใบ)	51	76	31	31	49	86	126
	ตะโกป่า (กิ่ง)	66	96	93	86	93	nd	nd
23	ขานาง (ใบ)	72	96	55	57	92	nd	nd
	ขานาง (กิ่ง)	73	97	69	67	87	nd	nd
	ขานาง (ผล)	76	90	45	53	38	95	94
24	แดง (ใบ)	90	98	129	91	97	nd	nd
25	มะค่าแต้ (ใบ)	88	99	67	46	79	nd	nd
26	มะค่าโมง (ใบ)	105	97	95	85	84	nd	nd
27	ยอป่า (ใบ)	107	100	92	85	93	nd	nd
28	พันชาด (ใบ)	21	97	24	21	10	52	48
29	ฝนแสนห่า (ใบ)	103	98	92	92	95	nd	nd
30	นมพิจิตร (ใบ)	98	100	118	95	95	nd	nd

หมายเหตุ nd หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

ตารางที่ 5 (ต่อ) ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรด้วยวิธี MTT colorimetric assay

ลำดับที่	ชนิดของพืชสมุนไพร / ชนิดเซลล์มะเร็ง	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็ง (% Cell Survival)						
		BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620	Hs27	CCD-986 SK
31	โมกมัน (ใบ)	74	97	50	53	62	nd	nd
32	หนามกลาย (ใบ)	103	101	112	97	97	nd	nd
33	ผักหวานเมา (ใบ)	105	99	111	89	97	nd	nd
34	ก่อแพะ (ใบ)	90	96	117	73	99	nd	nd
35	ตดหมูตดหมา (ใบ)	100	100	132	94	96	nd	nd
36	พลองขี้ควาย (ใบ)	23	65	28	18	35	77	93
37	พยอม (ใบ)	108	100	159	84	100	nd	nd
	พยอม (เปลือก)	104	100	176	88	101	nd	nd
	พยอม (เนื้อไม้)	111	100	170	91	99	nd	nd
38	ตับเต่าต้น (ใบ)	85	99	105	71	96	nd	nd
39	มะดูก (ใบ)	90	98	98	74	91	nd	nd
40	เจตพังคี (ใบ)	81	96	97	68	95	nd	nd

หมายเหตุ nd หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50})

ชนิดของพืชสมุนไพร / ชนิดเซลล์มะเร็ง	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}, µg/ml)						
	BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620	Hs27	CCD-986 SK
อ้อยสามสวน (ใบ)	10	>10	7.85	5.92	6.74	>10	>10
คัดเค้าป่า (ใบ)	10	>10	6.54	6.20	4.75	>10	>10
มะก่องขม (ใบ)	9.54	7.82	5.52	0.49	0.72	>10	>10
มะก่องขม (กิ่ง)	>10	10	7.64	0.78	4.59	>10	>10
มะก่องใหญ่ (ใบ)	>10	>10	8.06	5.37	5.16	10	>10
ข้าวหลาม (ใบ)	8.19	>10	6.99	7.38	4.60	>10	>10
ตาเสือ (ใบ)	>10	>10	10	4.08	2.87	>10	>10
ตาเสือ (กิ่ง)	10	8.64	10	1.01	4.41	>10	>10
คนทีสอป่า (กิ่ง)	8.53	>10	7.65	10	10	>10	>10
รางโดน (ใบ)	>10	>10	9.00	10	6.37	10	>10
เขียวพุ่ม (ใบ)	6.53	6.83	4.76	4.98	4.70	>10	>10
ตะโกป่า (ใบ)	>10	>10	7.68	10	6.39	>10	>10
ขานาง (ผล)	>10	>10	>10	10	5.19	>10	>10
พันชาด (ใบ)	6.03	>10	6.50	>10	6.13	10	10
พลองขี้ควาย (ใบ)	>10	>10	7.26	>10	>10	>10	>10
doxorubicin	0.53	0.47	0.60	0.57	0.09	nd	>10

หมายเหตุ nd หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

3. สกัดใบมะก่องขมด้วยเอทานอล

สกัดใบมะก่องขมที่อบแห้งและบดแล้ว 212.9 กรัม ด้วยเอทานอล 2.5 ลิตร (สกัด 3 ครั้ง) จากนั้นระเหยตัวทำละลายออก และทำให้แห้ง ได้สารสกัดหยาบเอทานอล 28.3 กรัม (13.3% ของน้ำหนักใบมะก่องขมแห้ง)

4. แยกสารสกัดหยาบด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกัน

แยกสารสกัดหยาบเอทานอลด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วต่างกัน 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และน้ำ ตามลำดับ ได้สารสกัดสามชนิดตามลำดับ คือ สารสกัดเฮกเซน 12.5 กรัม (44.2% ของน้ำหนักสารสกัดหยาบเอทานอล) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเขียวเข้ม, สารสกัดเอทิลอะซิเตต 4.0 กรัม (14.1% ของน้ำหนักสารสกัดหยาบเอทานอล) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเขียวเข้ม และสารสกัดน้ำ 11.7 กรัม (41.3% ของน้ำหนักสารสกัดหยาบเอทานอล) มีลักษณะเป็นยางเหนียวสีดำ

5. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของส่วนสกัดเฮกเซน ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตและส่วนสกัดน้ำของใบมะก่องขม

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของส่วนสกัดเฮกเซน ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตและส่วนสกัดน้ำของใบมะก่องขมแสดงในตารางที่ 7 พบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง SW620 ได้ดีที่สุด และยับยั้งเซลล์มะเร็ง KATO-III ได้รองลงมา โดยมีเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็งเท่ากับ 6% และ 26% ตามลำดับ แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง Hep-G2, BT474 และ Chago ได้ไม่ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็งทั้งสามชนิดนี้มากกว่า 50% ส่วนส่วนสกัดเฮกเซนและส่วนสกัดน้ำไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้งห้าชนิดที่ทดสอบได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็งอยู่ในช่วง 71-125%

ตารางที่ 7 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดมะก่องขมด้วยวิธี MTT colorimetric assay

ชนิดส่วนสกัดอินทรีย์ / ชนิดเซลล์มะเร็ง	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็ง (% Cell Survival)				
	BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620
ส่วนสกัดเฮกเซน	108	125	106	97	73
ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตต	57	67	56	26	6
ส่วนสกัดน้ำ	107	99	111	71	85

6. ผลการแยกส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตต 4.0 กรัมถูกนำมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลเป็นตัวชะ โดยเริ่มต้นการชะด้วยเฮกเซน และ

สิ้นสุดการชะด้วยสารละลายผสมเอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:1) สารที่เก็บได้หลังการแยกมีทั้งหมด 12 แฟรกชั่น (MKE1-12) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ลักษณะและน้ำหนักของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตที่แยกได้

แฟรกชั่น	ตัวชะ	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
MKE1	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีเหลือง	0.0380
MKE2	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีเหลืองอ่อน	0.0246
MKE3	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:2)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	0.0579
MKE4	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:1)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	0.2542
MKE5	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:1)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	0.2348
MKE6	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:1)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	0.1607
MKE7	เอทิลอะซิเตต	ของแข็งสีเขียวเข้ม	0.4934
MKE8	เอทิลอะซิเตต	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	0.4860
MKE9	เอทิลอะซิเตต	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	0.1823
MKE10	เอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:19)	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	0.1987
MKE11	เอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:5)	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	0.8704
MKE12	เอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:1)	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	0.8460

7. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จากส่วนสกัดเอทิลอะซิเตต (MKE1-12)

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จากส่วนสกัดเอทิลอะซิเตต (MKE1-12) แสดงในตารางที่ 9 พบว่าแฟรกชั่น MKE1, MKE3 และ MKE12 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดได้เลย แฟรกชั่น MKE2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ 4 ชนิด คือ BT474, Hep-G2, KATO-III และ SW620 สำหรับแฟรกชั่นอื่นๆ MKE4-11 ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดที่ทดสอบได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็งอยู่ในช่วง 6-37%

8. ผลการแยกสารแฟรกชั่น MKE4 ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

สารแฟรกชั่น MKE4 0.2521 กรัม ถูกนำมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลเป็นตัวชะ โดยเริ่มต้นการชะด้วยเฮกเซน และสิ้นสุดการชะด้วยสารละลายผสมเอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:9) สารที่เก็บได้หลังการแยกมีทั้งหมด 12 แฟรกชั่น (MKE4A-L) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 9 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตด้วยวิธี MTT colorimetric assay

ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตที่แยกได้ / ชนิดเซลล์มะเร็ง	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์มะเร็ง (% Cell Survival)				
	BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620
MKE1	109	134	104	92	88
MKE2	37	66	26	20	7
MKE3	71	110	70	72	73
MKE4	19	7	15	10	7
MKE5	20	7	16	14	7
MKE6	16	6	15	9	6
MKE7	16	9	18	10	8
MKE8	16	8	16	10	7
MKE9	18	18	20	12	7
MKE10	13	21	22	23	10
MKE11	26	37	31	18	13
MKE12	90	104	88	78	114

ตารางที่ 10 ลักษณะและน้ำหนักของสาร MKE4A-L ที่แยกได้

แฟรกชั่น	ตัวชะ	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
MKE4A	เฮกเซน	ของแข็งสีขาว	3.8
MKE4B	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีขาว	14.4
MKE4C	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีขาว	11.5
MKE4D	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีเหลืองอ่อน	9.5
MKE4E	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีเหลืองอ่อน	18.4
MKE4F	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีขาว	36.5
MKE4G	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	35.6
MKE4H	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	22.4
MKE4I	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:5)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	40.7
MKE4J	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:1)	ของแข็งสีเขียวเข้ม	22.5
MKE4K	เอทิลอะซิเตต	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	12.9
MKE4L	เอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:9)	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	22.3

จากการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารที่แยกได้ MKE4A-L ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี พบว่าแฟรกชั่น MKE4F, MKE4H และ MKE4I มีจำนวนชนิดของสารในแต่ละแฟรกชั่นไม่มากนัก จึงทำการแยกต่อไปอีกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลเป็นตัวชะ โดยเริ่มต้นการชะด้วยเฮกเซน และสิ้นสุดการชะด้วยสารละลายผสมเอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:9) หลังการแยก MKE4F, MKE4H และ MKE4I เก็บสารที่แยกได้ทั้งหมด 6, 8 และ 5 แฟรกชั่นตามลำดับ ซึ่งนำเฉพาะแฟรกชั่น MKE4F-2, MKE4H-4 และ MKE4I-4 ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งต่อไป

ตารางที่ 11 ลักษณะและน้ำหนักของสาร MKE4F-2, MKE4H-4 และ MKE4I-4

แฟรกชั่น	สารที่แยกได้	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
MKE4F	MKE4F-2	ของแข็งสีเหลืองอ่อน	8.5
MKE4H	MKE4H-4	ของแข็งสีเขียว	2.6
MKE4I	MKE4I-4	ของแข็งสีเหลือง	11.6

9. ผลการแยกสารแฟรกชั่น MKE6 ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

สารแฟรกชั่น MKE6 0.1593 กรัมถูกนำมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลเป็นตัวชะ โดยเริ่มต้นการชะด้วยเฮกเซน และสิ้นสุดการชะด้วยสารละลายผสมเอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:9) สารที่เก็บได้หลังการแยกมีทั้งหมด 11 แฟรกชั่น (MKE6A-K) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 12

จากการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารที่แยกได้ MKE6A-K ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี พบว่าแฟรกชั่น MKE6F มีจำนวนชนิดสารไม่มากนัก จึงทำการแยกต่อไปอีกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลเป็นตัวชะ โดยเริ่มต้นการชะด้วยเฮกเซน และสิ้นสุดการชะด้วยสารละลายผสมเอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:9) เก็บสารที่ได้จากการแยกได้ทั้งหมด 14 แฟรกชั่น นำสารส่วนสำคัญ 1 แฟรกชั่น (MKE6F-5) ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว 14.6 มิลลิกรัม ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งต่อไป

ตารางที่ 12 ลักษณะและน้ำหนักของสาร MKE6A-K ที่แยกได้

แฟรกชั่น	ตัวชะ	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
MKE6A	เฮกเซน	ของแข็งสีขาว	3.4
MKE6B	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (1:9)	ของแข็งสีขาว	2.3
MKE6C	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (3:7)	ของแข็งสีขาว	3.2
MKE6D	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (3:7)	ของแข็งสีขาว	2.5
MKE6E	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (3:7)	ของแข็งสีขาว	14.6
MKE6F	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (3:7)	ของแข็งสีขาว	18.5
MKE6G	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (3:7)	ของแข็งสีขาว	21.0
MKE6H	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (2:3)	ของแข็งสีขาว	46.7
MKE6I	เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (2:3)	ของแข็งสีเหลืองอ่อน	12.5
MKE6J	เอทิลอะซิเตต	ของแข็งสีเหลืองอ่อน	13.6
MKE6K	เอทิลอะซิเตตและเมทานอล (1:9)	ของแข็งสีเขียว	9.3

10. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จาก MKE4 และ MKE6

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จาก MKE4 และ MKE6 แสดงในตารางที่ 13 พบว่าทุกแฟรกชั่นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ดี โดยเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง SW620 ซึ่งมีค่า IC_{50} น้อยกว่า 0.001 μg/ml ซึ่งน้อยกว่าค่า IC_{50} ของยา Doxorubicin ถึง 90 เท่าเป็นอย่างน้อย ทำให้ต้องทำการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อหาค่าที่แน่นอนต่อไป สำหรับเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆ ทั้ง 4 ชนิด ค่า IC_{50} ที่ได้อยู่ในช่วง 0.06 – 5.95 μg/ml โดยที่สาร MKE4H-4 สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง BT474, Hep-G2 และ KATO-III ได้ดีที่สุดจากการทดสอบด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 3.28, 0.30 และ 0.06 μg/ml ตามลำดับ สาร MKE4F-2 สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง Chago ได้ดีที่สุดจากการทดสอบด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.70 μg/ml

ตารางที่ 13 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จาก MKE4 และ MKE6 ด้วยวิธี MTT colorimetric assay

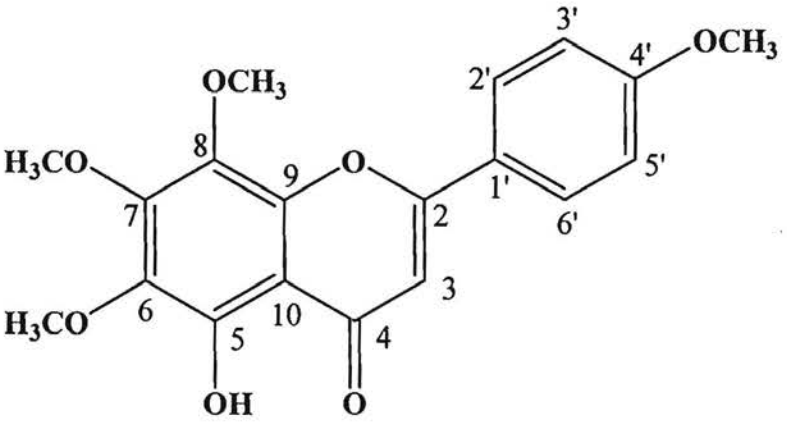
สารที่แยกได้ / ชนิดเซลล์มะเร็ง	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}, µg/ml)				
	BT474	Chago	Hep-G2	KATO-III	SW620
MKE4F-2	5.95	0.70	0.37	2.84	< 0.001
MKE4H-4	3.28	3.27	0.30	0.06	< 0.001
MKE4I-4	3.43	4.11	0.56	0.53	< 0.001
MKE6F-5	4.91	1.78	0.70	1.56	< 0.001
Doxorubicin	0.53	0.47	0.60	0.57	0.09

11. ผลการพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ โดยใช้เทคนิคทางสเปกโตรสโคปีต่างๆ

จากการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร MKE4F-2, MKE4H-4, MKE4I-4 และ MKE6F-5 ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี พบว่าสาร MKE4F-2 และ MKE6F-5 เป็นสารบริสุทธิ์ แต่สาร MKE4H-4 และ MKE4I-4 เป็นสารผสม จึงนำเฉพาะสาร MKE4F-2 และ MKE6F-5 ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปีเพื่อพิสูจน์ทราบโครงสร้างทางเคมี

จากสเปกตรัมโปรตอน NMR ของสาร MKE4F-2 ในตัวทำละลาย $CDCl_3$ (ภาพที่ 4) พบสัญญาณของโปรตอน 5 กลุ่ม ได้แก่สัญญาณที่ค่า chemical shift 12.62 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนที่ต่ออยู่กับหมู่ไฮดรอกซิล จำนวน 1 ตัว, chemical shift 8.00 ppm เป็นสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอน จำนวน 2 ตัว, chemical shift 7.00 ppm เป็นสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอน จำนวน 2 ตัว, chemical shift 6.50 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนที่ต่ออยู่กับอะตอมคาร์บอนชนิด sp^2 จำนวน 1 ตัว, chemical shift 3.96, 3.92, 3.90 และ 3.86 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนที่ต่ออยู่กับคาร์บอนที่ต่อกับอะตอมธาตุชนิดอื่น ในที่นี้คือหมู่เมทอกซิ ($-OCH_3$) จำนวน 4 ชุด โปรตอน 12 ตัว จากการประมวลผลของโปรตอน NMR ของสาร MKE4F-2 พบว่าเป็นสารในกลุ่มฟลาโวน (flavone) มีวงแหวนเบนซีนและมีหมู่เมทอกซิต่อในตำแหน่ง para ซึ่งดูจากค่า coupling constant ของโปรตอนในตำแหน่ง chemical shift 8.00 ppm และ 7.00 ppm ซึ่งเท่ากับ 8.8 และ 9.2 Hz พบว่าเป็นวงแหวนแอโรมาติกที่มีหมู่แทนที่ต่ออยู่ในตำแหน่งที่ 4 สำหรับข้อมูลจากคาร์บอน NMR (ภาพที่ 5) พบสัญญาณ 16 สัญญาณ ได้แก่ 178.94, 161.72, 158.76, 156.00, 152.81, 152.35, 138.74, 130.14, 122.84, 114.09, 106.63, 90.32, 60.87, 60.13, 56.30 และ 55.43 แสดงว่ามีสารนี้มีจำนวนคาร์บอนอย่างน้อย 16 อะตอม และสัญญาณที่ chemical shift 130.14 และ 114.09 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของ sp^2 ของแอโรมาติกคาร์บอนอะตอมมีความสูงกว่าสัญญาณอื่นๆ อาจหมายถึงที่สัญญาณนี้มีการซ้อนทับกัน แสดงว่าอาจมีคาร์บอน 2 อะตอมที่ค่า chemical shift ทั้งสองนี้ จากการเปรียบเทียบโปรตอน NMR ของสาร MKE4F-2 กับสาร 5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-

chromen-4-one หรือ 5-demethyltangeretin (ภาพที่ 2) ซึ่งมีสูตรโมเลกุล $C_{19}H_{18}O_7$ พบว่าค่า chemical shift มีค่าใกล้เคียงกันมากดังแสดงในตารางที่ 14



ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างของสาร MKE4F-2

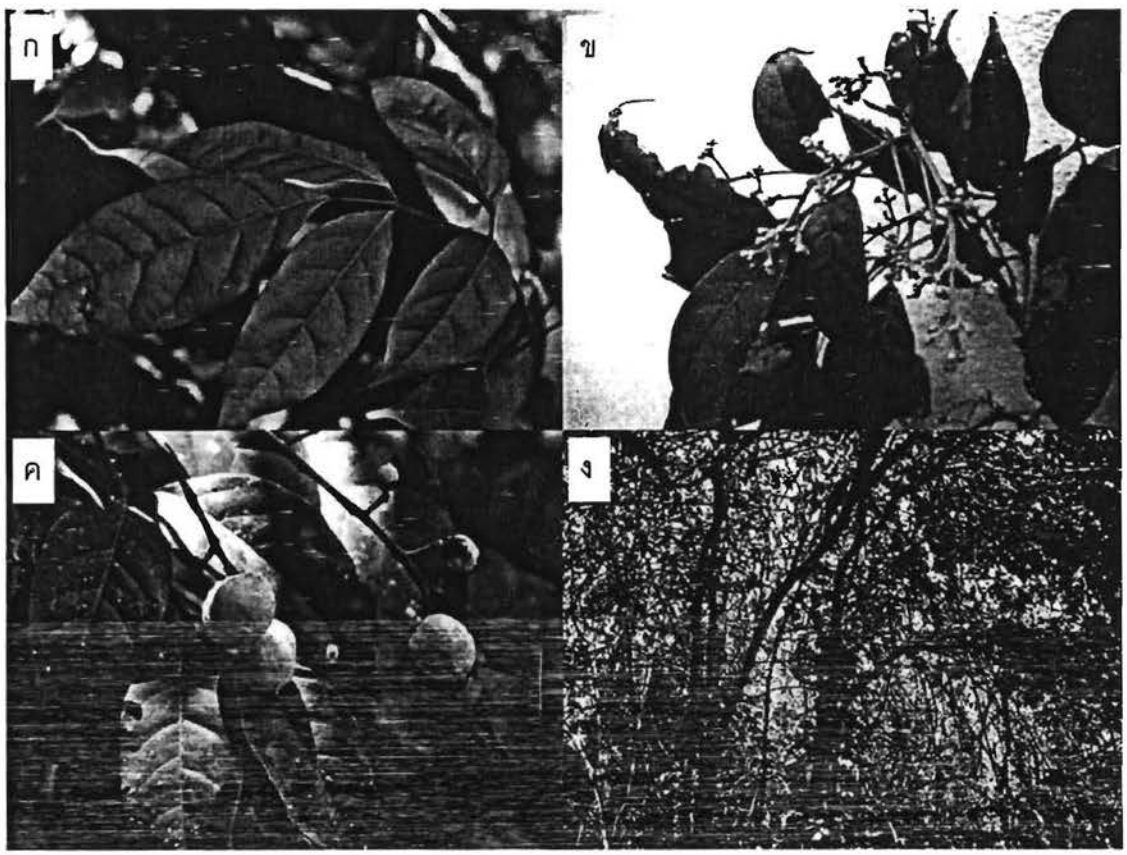
ตารางที่ 14 โปรตอน NMR ของสาร MKE4F-2 และ 5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one

ตำแหน่งโปรตอน	chemical shift ของสาร MKE4F-2 (ppm)	chemical shift ของสาร 5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one (ppm)
3	6.50	6.61
2′	8.00	7.91
3′	7.00	7.05
5′	7.00	7.05
6′	8.00	7.91
OCH_3	3.86, 3.90, 3.92, 3.96	3.91, 3.97, 3.99, 4.13

สำหรับสเปกตรัมโปรตอน NMR ของสาร MKE6F-5 ในตัวทำละลาย $CDCl_3$ (ภาพที่ 6) พบสัญญาณของโปรตอน 3 กลุ่ม คือ สัญญาณที่ค่า chemical shift 4.66 และ 4.72 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณคู่ของโปรตอนที่ต่ออยู่กับ sp^2 คาร์บอนที่มีพันธะคู่, chemical shift 3.5 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนที่ต่อกับคาร์บอนที่ต่อกับอะตอมธาตุอื่น (heteroatom), chemical shift 2.26-0.23 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนที่ต่ออยู่กับอะตอมคาร์บอนชนิด sp^3 ของหมู่ $-CH_2-$ และ $-CH_3$ สำหรับข้อมูลจากสเปกตรัมคาร์บอน NMR (ภาพที่ 7) พบสัญญาณ 30 สัญญาณ ได้แก่ 156.82, 106.01, 80.68, 76.14, 72.10, 52.33, 52.21, 48.93, 48.67, 46.84, 45.30, 39.50, 36.07, 35.32, 34.96, 34.66, 33.81, 32.56, 31.60, 31.29, 30.73, 30.44, 28.53, 28.02, 26.57, 22.67, 21.99, 21.86, 19.18, 18.32และ 17.81 แสดงว่ามีสารนี้มีจำนวนคาร์บอนอย่างน้อย 30 อะตอม สัญญาณที่ได้แสดงว่าสารนี้มีคาร์บอนที่เกิดพันธะคู่ 1 พันธะ และมีคาร์บอนที่ต่ออยู่กับอะตอมอื่น

(heteroatom) ด้วย จากลักษณะของโปรตอนและคาร์บอน NMR พบว่าสาร MKE6F-5 เป็นสาร triterpenoid แต่ต้องอาศัยข้อมูลทางสเปกโตรสโคปีมากกว่านี้ในการพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสาร

จากการตรวจสอบข้อมูลของมะก่องขมกับสำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช พบว่ามะก่องขมมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Aglaia elaeagnoidea* (A. Juss.) Benth. ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Meliaceae มีชื่อสามัญหลายชื่อ โดยทางภาคใต้เรียกว่า กระดูกเขียด, แดงขาว, ตาแมว ภาคตะวันออกเรียกว่า สังเครียดดำ, น้ำผึ้ง, จังครู พบได้ในป่าดงดิบ มีการกระจายตัวในเขต Indomalesian ไล่ตั้งแต่อินเดีย ศรีลังกา พม่า เวียดนาม ไทย กัมพูชา มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวันและออสเตรเลีย เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กสูงประมาณ 8-15 เมตร ใบรูปรี ขอบขนาน ใบย่อยเรียงตรงข้ามกันบนแกนใบ ช่อดอกแบบช่อแยกแขนง ออกดอกตามง่ามใบ ดอกเล็กสีเหลือง กลีบดอก 5 กลีบ โคนติดกันเป็นรูปถ้วย มีเกสรตัวผู้ 5 อัน ก้านชูอับเรณูเชื่อมติดกันเป็นหลอดสั้นๆ หุ้มรังไข่ไว้ภายใน ดอกมีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ ออกดอกในช่วงเดือนกันยายน-พฤศจิกายน ผลรี มี 2 เมล็ด เมล็ดรูปขอบขนาน ด้านหนึ่งโค้งนูนออก อีกด้านหนึ่งเรียบประกบกัน มีเยื่อหุ้ม ผลสุกในช่วงเดือนมีนาคม-กรกฎาคม (Wongprasert, T., et al, 2011) ลักษณะของส่วนต่างๆ ของมะก่องขมแสดงในภาพที่ 3 จากการสืบค้นข้อมูลทั่วไปไม่พบการนำมะก่องขมไปใช้ประโยชน์ทางยาแต่อย่างใด พบเพียงการรายงานทางพฤกษศาสตร์ทั่วไป



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของส่วนต่างๆ ของมะก่องขม ก) ใบมะก่องขม ข) ดอกของมะก่องขม ค) ผลสุกมะก่องขม และ ง) ต้นมะก่องขม

จากการสืบค้นข้อมูลรายงานทางวิทยาศาสตร์ของมะก่องขม พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอะมีบา *Entamoeba histolytica* ซึ่งก่อให้เกิดโรคบิดของสารสกัดหยาบของมะก่องขมและพืชอื่นอีก 3 ชนิด คือ *Stemona tuberosa*, *Aglaia edulis*, *Aglaia elaeagnoidea* และ *Aglaia odorata* พบว่าสารสกัดหยาบของกิ่งมะก่องขมให้ผลการทดสอบว่ามีฤทธิ์ต้านอะมีบาด้วยค่า IC_{99} 496 ng/ml และสารสกัดหยาบใบของ *Stemona tuberosa* ให้ค่า IC_{99} 638 ng/ml (Tasanor, O., et al, 2007) และพบรายงานการศึกษาการกระจายตัวของพืชในสกุล *Aglaia* โดยเก็บตัวอย่างจากศรีลังกา บังคลาเทศ ไทย เวียดนาม และออสเตรเลีย โดยศึกษาจากลักษณะทางกายภาพของต้นไม้ และข้อมูลของดีเอ็นเอ (Muellner, A.N., Greger, H. and Pannell, C.M., 2009) นอกจากนี้ยังพบมีรายงานการศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ของสารสกัดเอทานอลของใบมะก่องขม พบสาร caryophyllene, 1*H*-pyrrole-1-methyl, 3-hexanol-3,5-dimethyl, 7-chloro-3-(4-methyl-1-piperazinyl)-4*H*-1,2,4-benzothiadiazinel และ 1-dioxide (Rajeswari, N.R. and Muthuchelian K., 2011)

สรุปและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานวิจัยในขั้นต่อไป

งานวิจัยนี้สามารถคัดกรองพืชสมุนไพรจำนวน 13 ชนิด จากพืชสมุนไพรที่เก็บตัวอย่างมาจากอุทยานแห่งชาติปางสีดาทั้งหมดจำนวน 40 ชนิด ที่มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและไม่เป็นพิษกับเซลล์ปกติ ได้แก่ อ้อยสามสวน (ใบ), คัดเค้าป่า (ใบ), มะก่อง (ทั้งใบและกิ่ง), มะก่องใหญ่ (ใบ), ข้าวหลาม (ใบ), ตาเสือ (ทั้งใบและกิ่ง), คนทีสอ (กิ่ง), รางโคน (ใบ), เขียวพุ่ม (ใบ), ตะโกป่า (ใบ), ขานาง (ผล), พันชาด (ใบ) และ พลองขี้ควาย (ใบ) โดยที่สารสกัดหยาบเอทานอลที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง BT474, Chago และ Hep-G2 มากที่สุดจากสารสกัดหยาบพืชสมุนไพรที่ทดสอบ คือสารสกัดหยาบของใบเขียวพุ่ม มีค่า IC_{50} 6.53, 6.83 และ 4.67 μg/ml ตามลำดับ ส่วนสารเปรียบเทียบ doxorubicin มีค่า IC_{50} 0.53, 0.47 และ 0.60 μg/ml ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KATO-III และ SW620 มากที่สุดจากการทดสอบ คือสารสกัดหยาบของใบมะก่องขม มีค่า IC_{50} 0.49 และ 0.72 μg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับสาร doxorubicin ซึ่งมีค่า IC_{50} 0.57 และ 0.09 μg/ml ตามลำดับ

มะก่องขม (*Aglaia elaeagnoidea* (A. Juss.) Benth.) ถูกเลือกนำมาแยกและหาสารบริสุทธิ์เพื่อทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง สารสกัดหยาบเอทานอลของใบมะก่องขมถูกแยกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนสกัดเฮกเซน, ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตต และส่วนสกัดน้ำ เพื่อแยกสารออกเป็นกลุ่มๆ ตามสภาพความมีขั้วของสารองค์ประกอบที่มีในสารสกัดหยาบ เมื่อนำไปทดสอบกับเซลล์มะเร็งพบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกันใน 3 ส่วนนี้ดังผลในตารางที่ 7 ดังนั้นส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตจึงถูกแยกต่อไปด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้สาร 12 แฟรกชั่น คือ MKE1-12 สาร MKE4 และ MKE6 แสดงผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งดีที่สุดจึงนำมาแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีอีก สารทั้งสองแฟรกชั่นถูกแยกซ้ำต่อไปอีกสองรอบ ได้สารออกมาหลายแฟรกชั่น สาร MKE4 หลังการแยกได้สารที่นำไปทดสอบกับเซลล์มะเร็ง 3 ตัว คือ สาร MKE4F-2, MKE4H-4 และ MKE4I-4 ส่วนสาร MKE6 หลังการแยกสิ้นสุดได้สาร 1 ตัวไปทดสอบกับเซลล์มะเร็ง คือ MKE6F-5 ผลการทดสอบกับเซลล์มะเร็งพบว่า สารทุกตัว MKE4F-2, MKE4H-4, MKE4I-4 และ MKE6F-5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดได้ดีดังผลในตารางที่ 13 โดยเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง SW620 (human colon adenocarcinoma ATCC no. CCL 227) ซึ่งมีค่า IC_{50} น้อยกว่า 0.001 μg/ml ซึ่งยังคงต้องทำการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อหาค่าที่แน่นอนต่อไป เมื่อเปรียบเทียบกับค่า IC_{50} ของ Doxorubicin พบว่าสารที่แยกได้จากใบมะก่องขมมีความแตกต่างน้อยกว่าถึง 90 เท่าเป็นอย่างน้อย สำหรับเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆ ทั้ง 4 ชนิด คือ เซลล์มะเร็ง BT474, Chago, Hep-G2 และ KATO-III มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.1 – 9.63 μg/ml จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีพบว่าสาร MKE4F-2 (8.5 มิลลิกรัม, 0.004% ของน้ำหนักใบอบแห้ง) และ MKE6F-5 (14.6 มิลลิกรัม, 0.007% ของน้ำหนักใบอบแห้ง) เป็นสารบริสุทธิ์ และเมื่อพิสูจน์หาโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปีพบว่าสาร MKE4F-2 คือ 5-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one (5-demethyltangeretin) และ MKE6F-5 คือ triterpenoid

จากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จากใบมะก่องขม พบว่าสารเหล่านี้มีแนวโน้มที่ดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งโดยเฉพาะกับเซลล์มะเร็ง SW620 (human colon adenocarcinoma ATCC no. CCL 227) ควรทำการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อหาค่า IC_{50} ของสารทั้งสี่ตัว และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโคปีเพิ่มเติมเพื่อหาสูตรโครงสร้างของสาร MKE6F-5 สารสกัดจากใบมะก่องขมควรได้รับการวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดมากยิ่งขึ้น เนื่องจากมีแนวโน้มว่าสามารถนำมาพัฒนาเป็นยาในการรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้

บรรณานุกรม

สาคร พรประเสริฐ, ขนิษฐา พันธุรี, อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ. ฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งเซลล์และความเป็นพิษของหญ้าปักกิ่งต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว. *เชียงใหม่เวชสาร* **2544**, 40(4),195-203.

สุพัตรา ชวลิตพงษ์, จันทรกานต์ ศรีสมทรัพย์, รัตนา ปานเรียนแสน และ วิชัย เชิดชีวศาสตร์. การศึกษาความเป็นพิษของพืชสมุนไพรไทยในกลุ่มยาอายุวัฒนะต่อเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MDA-MB-231. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50, สาขาวิทยาศาสตร์, สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ, **2555**, หน้า 172-178.

สุนันท์ ช่ยนะกุล นันทรัตน์ รุ่งสกุล จินดา แต้มบรรจง และ พรทิพา พิชา การศึกษาสารสกัดที่แยกได้จากหญ้าสาบกา (*Hygrophila incana* nees.) ต่อเซลล์มะเร็งลิวคีเมีย (P388) และเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7). 31st Congress on science and technology of Thailand at Suranaree University of Technology 18-20 October **2005**.

Bunpo P., Kataoka K., Arimochi H., Nakayama H., Kuwahara T., Ohnishi Y., Vinitketkumnuen U. *Centella asiatica* extract induces cell cycle arrest in caco-2 human colon cancer cells. *Chiang Mai Med bull* **2005**, 44, 21-28.

Itharat A., Ooraikul B. Research on Thai medicinal plants for cancer treatment. *Advances in medicinal plant research* **2007**, 287-317.

Jiratchariyakul W., Okabe H., Moongkrandi P., Frahm A.W. cytotoxic glycosphinglipid from Murdannia loriformis (Hassk) Rolla Roa et Kammathy. *Thai J Phytopharm* **1998**, 5, 10-20.

Kugelman M., Liu W.C., Axelrod M., McBride T.J. and Rao K.V. Indicine-N-oxide: the antitumor principle of *Heliotropium indicum*. *Lloydia*. **1976**, 39(2-3), 125-128.

Mahidol C., Prawit H., Prachyawarakorn V., Ruchirawat S. Investigation of some bioactive Thai medicinal plants. *Phytochemistry Reviews* **2002**, 1, 287-297.

Manosroi J, Boonpisuttinant K, Manosroi W, Manosroi A. Anti-proliferative activities on HeLa cancer cell line of Thai medicinal plant recipes selected from MANOSROI II database. *J Ethnopharmacol*. **2012**, 142(2), 422-31.

Moongkarndi P, Kosem N, Luanratana O, Jongsomboonkusol S, Pongpan N. Antiproliferative activity of Thai medicinal plant extracts on human breast adenocarcinoma cell line. *Fitoterapia* **2004**, 75, 375-377.

Muellner, A.N., Greger, H., Pannell, C.M. Genetic diversity and geographic structure in *Aglaia elaeagnoidea* (*Meliaceae*, *Sapindales*), a morphologically complex tree species, near the two extremes of its distribution. *Blumea* **2009**, 207–216.

Noble, R.L. The discovery of the vinca alkaloids - chemotherapeutic agents against cancer. *Biochemistry and Cell Biology*, **1990**, 68(12), 1344-1351.

Rajeswari, N.R. and Muthuchelian K. GC-MS analysis of bioactive components from the ethanolic leaf extract of *Aglaia elaeagnoidea* (A. Juss) Benth. *J. Biosci. Res.* **2011**, 2, 208-215.

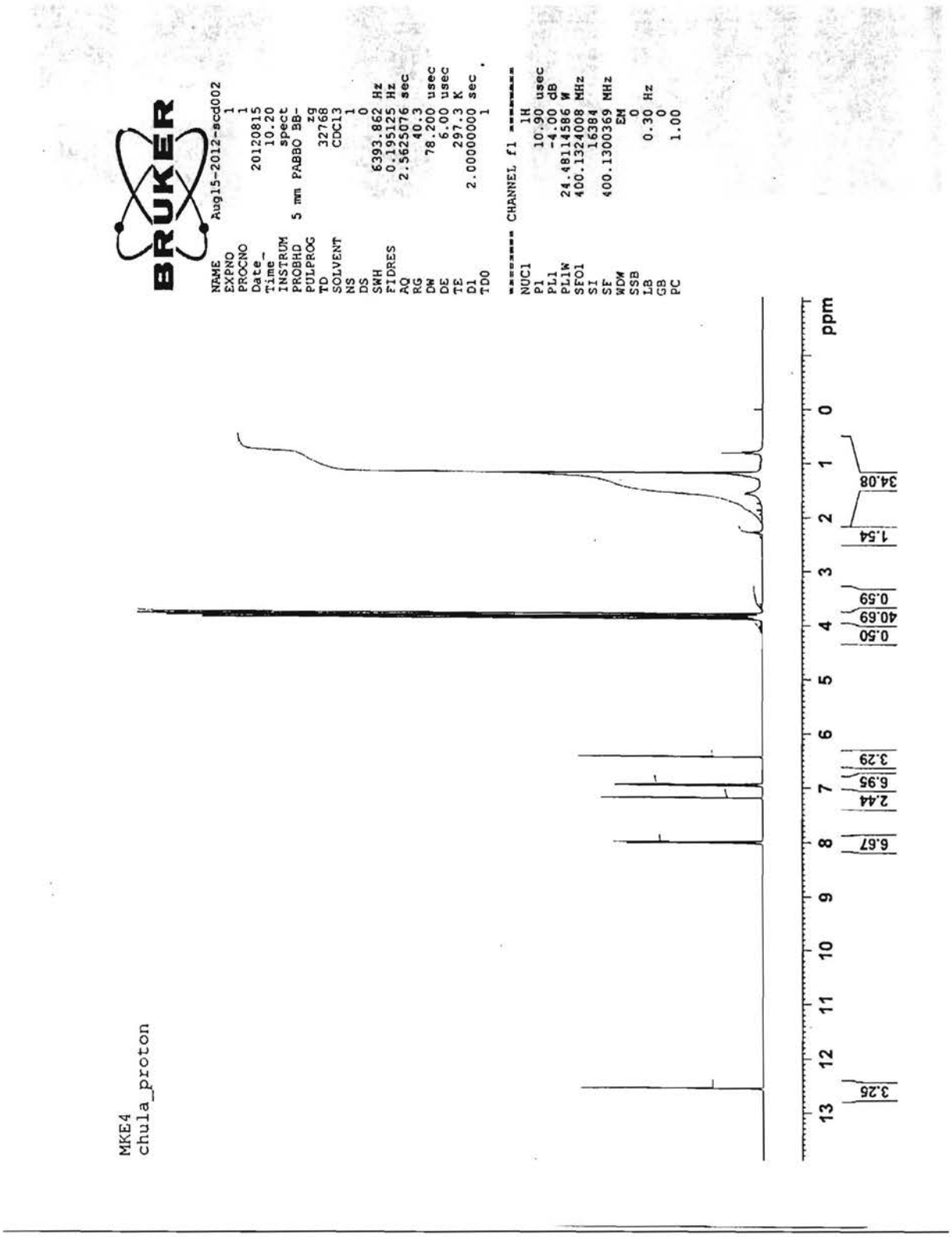
Saetung, A., Itharat, A., Dechsukum, C., Wattanapiromsakul, C., Keawpradub, N. and Ratanasuwan, P. Cytotoxicity activity of Thai medicinal plants for cancer treatment. Songklanakarin *J. Sci. Technol.* Vol. 27 (Suppl. 2), **2005**, Thai Herbs 469-478.

Tasanor O, Brem B, Leitsch D, Binder M, Duchêne M, Greger H, Wernsdorfer WH. Development of a pharmacodynamic screening model with *Entamoeba histolytica*. *Wien Klin Wochenschr*. **2007**, (119), 88-95.

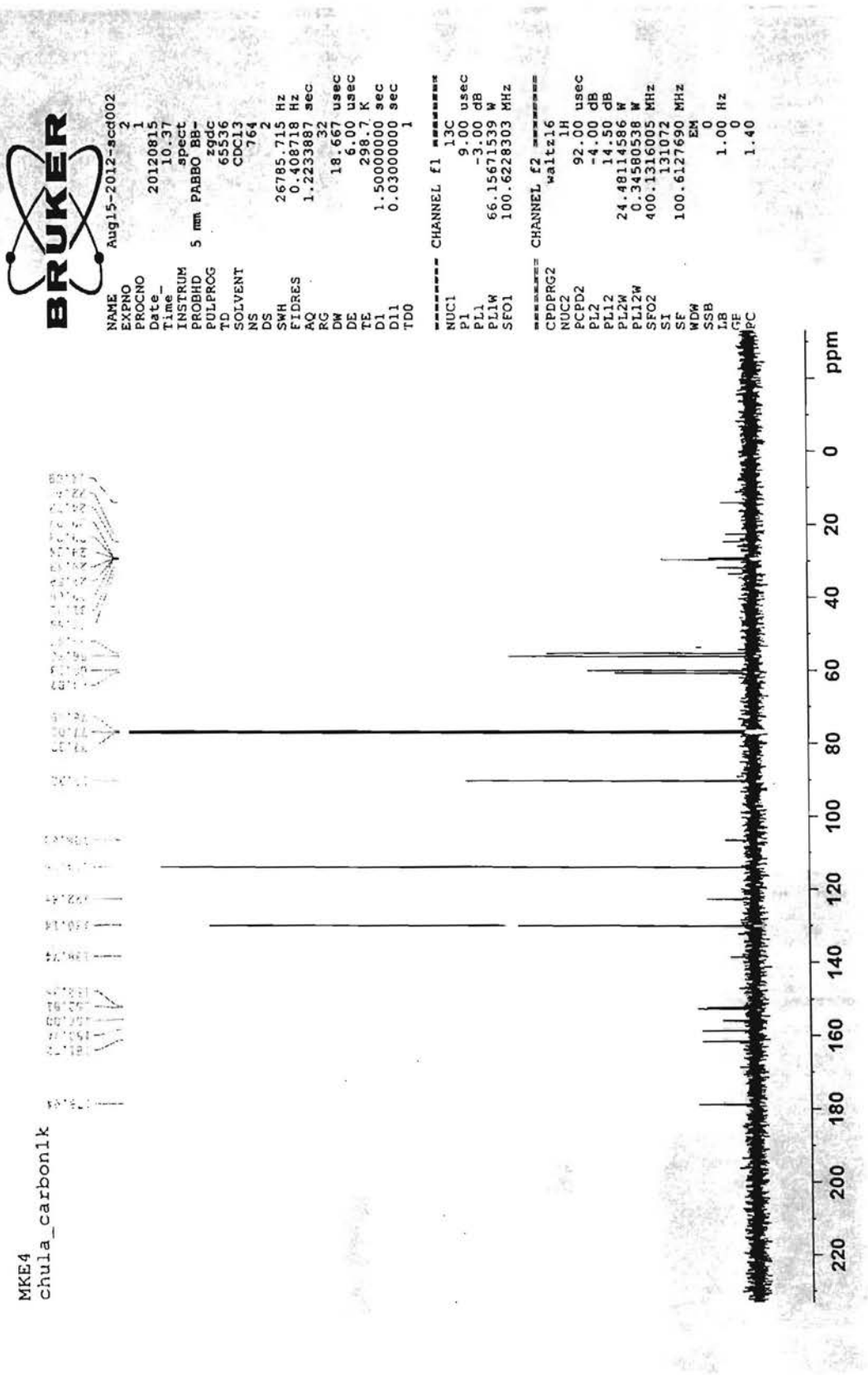
Umehara K, Nemoto K, Matsushita A, Terada E, Monthakantirat O, De-Eknamkul W, Miyase T, Warashina T, Degawa M, Noguchi H. Flavonoids from the heartwood of the Thai medicinal plant *Dalbergia parviflora* and their effects on estrogenic-responsive human breast cancer cells. *J Nat Prod.* **2009**, 72(12), 2163-8.

Wiratchanee Mahavorasirikul, Vithoon Viyanant, Wanna Chaijaroenkul, Arunporn Itharat, Kesara Na-Bangchang Cytotoxic activity of Thai medicinal plants against human cholangiocarcinoma, laryngeal and hepatocarcinoma cells *in vitro*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **2010**, 10, 55.

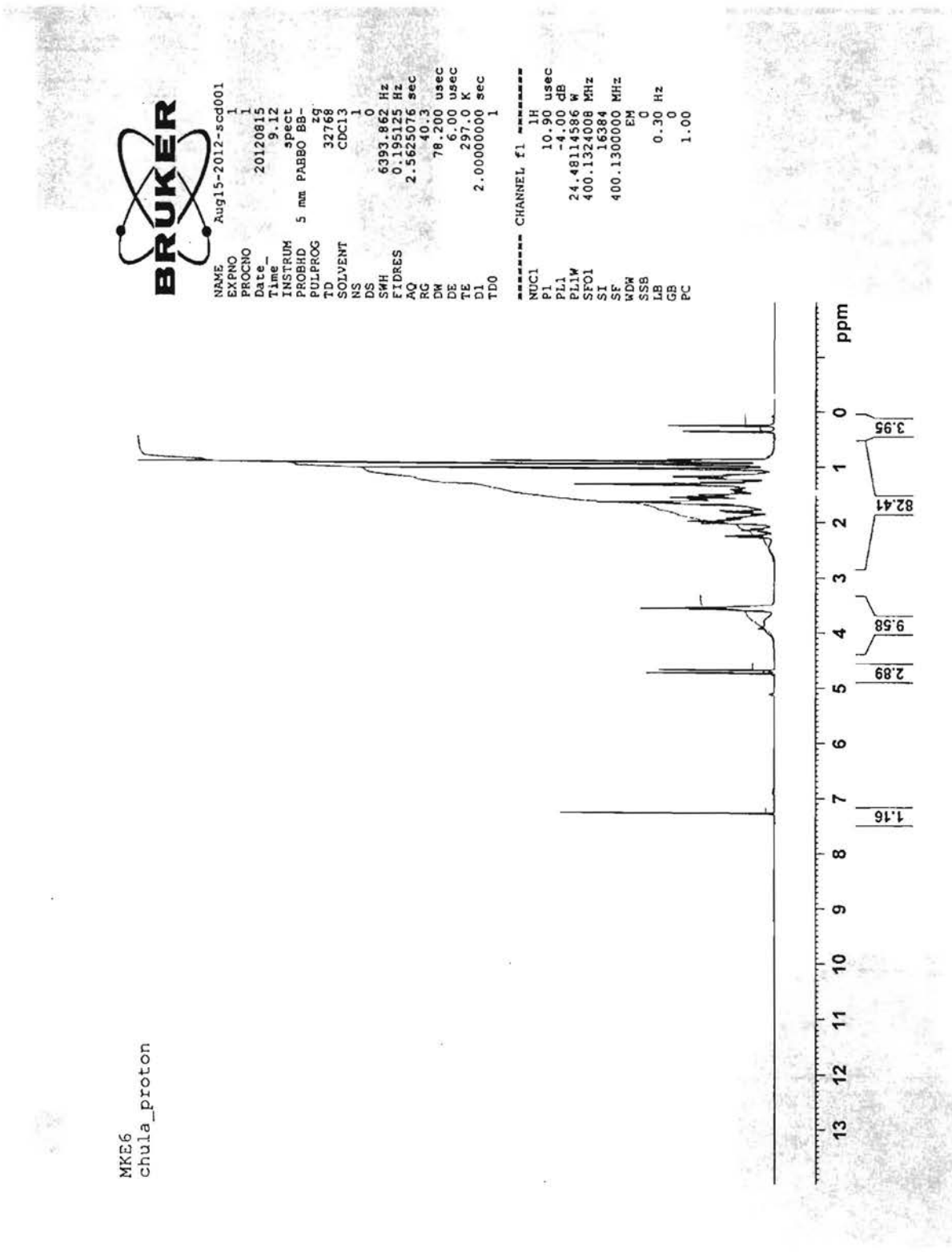
Wongprasert, T., Phengklai, C., Boonthavikoon, T. Asynoptic account of the Meliaceae of Thailand. *Thai For. Bull. (Bot.)* **2011**, 39, 210-266.



ภาพที่ 4 สเปกตรัม ^{1}H NMR ของสาร MKE4F-2



ภาพที่ 5 สเปกตรัม ^{13}C NMR ของสาร MKE4F-2



ภาพที่ 6 สเปกตรัม ^{1}H NMR ของสารMKE6F-5

ภาพที่ 7 สเปกตรัม ^{13}C NMR ของสาร MKE6F-5

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) อาจารย์ ดร. จรรยา ชัยเจริญพงศ์

   ชื่อ – นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Chanya Chaicharoenpong, Ph.D.

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 2102 00084 76 6

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

   สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

   อาคารสถาบัน 3 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

   โทรศัพท์ 02-2188073 โทรสาร 02-2533543

   E-mail Chanya.C@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

   พ.ศ. 2546 Ph.D. (Fundamental Science and Technology) Keio University ประเทศญี่ปุ่น

   พ.ศ. 2540 วท. ม. (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

   พ.ศ. 2537 วท. บ. (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

   ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, การสังเคราะห์สารอินทรีย์

7. ผลงานวิจัย

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1) Techaprempreecha S., Khongchareonporn **N.**, **Chaicharoenpong C.**, Aranyakananda P., Chunhabundit S. and Petsom **A**. Nutritional composition of farmed and wild sandworms, *Perinereis nuntia*. *Animal Feed Science and Technology*. **2011**; *169*, 265-269.

2) **Chaicharoenpong C**. and Petsom A. Quantitative thin layer chromatographic analysis of saponins in tea seed meal. *Phytochem Anal*. **2009**; *20*, 253-255.

3) **Chaicharoenpong C.**, Kato K. and Umezawa K. Preparation of radioactively labeled dehydroxymethylepoxyquinomicin, an NF-KB function inhibitor. *Drugs Exp Clin Res*. **2003**; *29*, 1-3.

4) **Chaicharoenpong C.**, Kato K. and Umezawa K. Synthesis and structure-activity relationship of dehydroxymethylepoxyquinomicin analogues as inhibitors of NF-KB functions. *Bioorg Med Chem* **2002**; *10*: 3933-3939.

5) Umezawa K. and **Chaicharoenpong C.** Molecular design and biological activities of NF-KB inhibitors. *Mol Cells* **2002**; *14*: 163-167.

6) Saito Y., Nakamura M., Ohno T., **Chaicharoenpong C.**, Ichikawa E., Yamamura S., Kato K. and Umezawa K. Synthesis of sugar-modified derivatives of the unusual nucleoside oxanosine and its carbocyclic analogs as potential inhibitors of HIV. *J Chem Soc Perk T 1* **2001**; 298-304.

7) Saito Y., Nakamura M., Ohno T., **Chaicharoenpong C.**, Ichikawa E., Yamamura S., Kato K. and Umezawa K. Synthesis of oxanosine and carbocyclic oxanosine derivatives as anti-HIV agent. *J Antibiot.* **2000**; *53*, 309-13.

8) Saito, Y., **Chaicharoenpong, C.**, Ohno, O., Ichikawa, E., Yamamura, S., Kato, K., Nakamura, M., Ohno, T. and Umezawa, K. Synthesis and anti-HIV activity of unusual nucleoside oxanosine derivatives. *Nucleic Acids Symp Ser.* **1999**; *42*, 19-20.

ผลงานวิจัยที่เสนอในการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

1) **จรรยา ชัยเจริญพงศ์** และ อมร เพชรสม. งานวิจัยกับความพอเพียง:นาน้อยที่หอยเมิน. การประชุมวิชาการระดับชาติขับเคลื่อนปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง ครั้งที่ 1, 22 มีนาคม **2553**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.

2) วาทินี จันมี, **จรรยา ชัยเจริญพงศ์** และ อมร เพชรสม. Chemical constituents and lipase inhibitory activity of Solanum starmonifolium Jacq. Fruit. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 14, 10-11 กันยายน **2552**. กรุงเทพมหานคร.

3) **จรรยา ชัยเจริญพงศ์**, อมร เพชรสม และ ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ. Sapindoside B and mukurozi-saponin E1 principle molluscicides of Sapindus rarak fruits in Thailand. งานประชุมวิชาการนานาชาติ NRCT–JSPS ครั้งที่ 8, 3-4 กุมภาพันธ์ **2552**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.

4) Techaprempreecha, S., Khongchareonporn, N., Chaicharoenpong, C., Aranyakananda P., Chunhabundit S. and Petsom A. *Proximate composition of farmed and wild Sandworms (Perinereis nuntia, Savigny).* Poster presentation at The 4th International Greek Biotechnology Forum Zappeio Megaro, February 2-3, **2008**, Athens.

5) **Chaicharoenpong C.**, Puthong S. and Ishikawa T. *Synthesis of derivatives of naphthoquinone monooxime and their cytotoxic activity.* Poster Presentation at the 32th Congress on Science and Technology of Thailand, 10-12 October **2006**, Queen sirikit national convention center, Bangkok, Thailand, Abstract p. 177.

6) **Chaicharoenpong C.**, Saito, T., Ohashi, Y., Yoshino, R., Watanabe, T., Ishikawa, T., Maruyama, S., Kogo, Y. and Ichikawa, Y. *Chemistry of antitumor active 2-aryl-1,4-naphthoquinone-1-oximes.* 30th

Symposium on Progress in Organic Reactions and Syntheses-Application in the Life Sciences-. October 19-20, **2004**, Sapporo, Japan.

7) **Chaicharoenpong C.** and Umezawa K. *Preparation of radioactivity labeled dehydroxymethylepoxyquinomicin, an NF-κB function inhibitor.* Poster Presentation at the 29th Congress on Science and Technology of Thailand, 20-22 October **2003**, Golden Jubilee Convention Hall, Khon Kean University, Thailand, Abstract p. 120.

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางทรงจันทร์ ภู่ทอง
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Songchan Puthong
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 2001 01339 43 0
3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

   สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   อาคารสถาบัน 3 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
   โทรศัพท์ 02-2188078 โทรสาร 02-2533543
   E-mail songchan.p@chula.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
   พ.ศ. 2540 วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   พ.ศ. 2529 วท.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยบูรพา
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง และการเตรียมโมโนโคลนอลแอนติบอดี (anti-hepatoma, anti- α-fetoprotein (AFP), anti-carcinoembryonic antigen (CEA))
7. ผลงานวิจัย

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1) Graisuwan, W., Wairachai, O., Ananthanawat, C., **Puthong, S.**, Soogarun, S., Kaitkamjornwong, S., and Voravee P.Hoven. Multilayer film assembled from charged derivatives of chitosan : Physical characteristics and biological responses. *Journal of Colloid and Interface Science.* **2012**; 376, 177 – 188.

2) Teerasripreecha, D., Phuwapraisirisan, P., **Puthong, S.**, Kimura, K., Okuyama, M., Mori, H., Kimura, A., and Chanchao, C. *In vitro* antiproliferative/cytotoxic activity on cancer cell lines of a cardanol and a cardol enriched from Thai *Apis mellifera* propolis. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* **2012**; 12, 27.

3) **Puthong, S.**, Gamnarai, P., Roitrakul, S., Kittisenachai, S., Kangsadalampai, S., and Rojpibuistit P. Hep88 mAb Induced Ultrastructural Alteration Through Apoptosis Like Program Cell Death in Hepatocellular Carcinoma. *Journal of the Medical Association of Thailand*, **2011**; 94 (12), 109 - 116.

4) Sangthong, S., Krusong, K., Ngamrojanavanich, N., Vilaivan, T., **Puthong, S.**, Chandchawan, S., and Muangsin, N. Synthesis of rotenoid derivatives with cytotoxic and topoisomerase II inhibitory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* **2011**.

5) Tantithanagorngul, W., Sujitwanit, A., Piluk, J., Tolieng, V., Petsom, A., Sangvanich, P., Palaga, T., **Puthong, S.**, Thamchaipenet, A., and Pinphanichakarn, P. Screening for brine shrimp larvicidal activity of *Streptomyces* isolated from soil and anti-tumor activity of the active isolates. Australian Journal of Basic and Applied sciences. **2011**; 5(7), 15-22.

6) Umthong, S., Phuwapraisirisan, P., **Puthong, S.**, and Chanchao, C. *In vitro* antiproliferative activity of partially purified *Trigona laeviceps* propolis from Thailand on human cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* **2011**; 11, 37.

7) Karnchanatat, A , Tiengburanatam, N., Boonmee, A., **Puthong, S.**, and Sangvanich, P. Zingipain, A cysteine protease from *Zingiber ottensii* valeton rhizomes with antiproliferative activities against fungi and human malignant cell lines. Preparative Biochemistry & Biotechnology. **2011**; 41, 1-17.

8) Kheeree, N., Sangvanich, P., **Puthong, S.**, and Kanchanatat, A. Antifungal and antiproliferative activity of lectin from the Rhizomes of Curcuma amarissima Roscoe. *Appl Biochem Biotechnol.* **2010**; 162, 912-925.

9) Komolphis, K., Udomcheokmongkol, C., **Puthong, S.**, and Palaga, T. Comparative production of a monoclonal antibody specific for enrofloxacin in a stirred-tank bioreactor. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.* 2010; 16, 567-571.

10) Roengsumran, S., Musikul, K., Petsom, A., Vilaivan, T., Sangvanich, P., Pornpakakul, S., **Puthong, S.**, Chaichantipyuth, C., Jaiboon, N., Chaichit, N. (2002) Croblonhifolin, a new anticancer Clerodane from *Croton oblongifolius*. Planta Medica 68: 274 – 277.

11) Chaichantipyuth C., Tiyaworanon S., Mekaroonreung S., Ngamrojnavanich N., Roengsumran S., **Puthong S.**, Petsom A., Ishikawa T. (2001) Oxidized heptenes from flowers of *Melodorum fruticosum*. Phytochemistry 58: 1311 – 1315.

12) Roengsumran S., Petsom A., Kuptiyanuwat N., Nilaivan T., Ngamrojnavanich N., Chaichantipyuth C., **Puthong S.** (2001) Cytotoxic labdane diterpenoids from *Croton oblongifolius*. Phytochemistry 56: 103 – 107.

13) Moongkarndi P., Srivattana A., Bunyapraphatsara N., **Puthong S.**, Loahathai K. Cytotoxicity assay of Hispidulin and Quercetin using colorimetric technique. วารสารเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ก.ค. – ธ.ค. 2534 ปีที่ 18 เล่มที่ 2.

ผลงานวิจัยที่เสนอในการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

1) Chadseesuwan, U., **Puthong, S.**, Gajanandana, O., Palaga, T., and Komolpis, K. Production of monoclonal antibodies against 1-aminohydantoin. *Proceedings of 2011 International Conference on Asia Agriculture and Animal (ICAAA 2011)*, July 2-3, **2011**, Hong Kong.

2) Kittisenachai, S., **Puthong, S.**, Manochan, S., Gamnarai, P., Kangsadalampai, S., Roytrakul, S., and Rojpibulstit, P. Proteomic study of tumor antigen recognized by Hep88 mAb: A novel harmful mAb to hepatocellular carcinoma. *Proceeding in The 3rd Biochemistry and Molecular biology (BMB) conference "From Basic to Translational Research for a Better Life".* April 6-8, **2011**, The Empress Convention Centre, Chiang Mai, Thailand.

3) Rojpibulstit, P., Manochantr, S., Gamnarai, P., **Puthong, S.**, Kittisenachai, S., Kangsadalampai, S., and Roitrakul, S. **2010**. Ultracellular alterations of the hepatocellular carcinoma cell line induced by Hep-88 mAb : A novel harmful mAb. *Proceedings of the Austration Society for Biochemistry and molecular biology.* 42, 248.

4) Chaicharoenpong C., **Puthong S.** and Ishikawa T. *Synthesis of derivatives of naphthoquinone monooxime and their cytotoxic activity.* Poster Presentation at the 32th Congress on Science and Technology of Thailand, 10-12 October **2006**, Queen sirikit national convention center, Bangkok, Thailand, Abstract p. 177.

<u>ผู้ร่วมโครงการวิจัย</u>

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายอณุมาศ บัวเขียว
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Anumart Buakeaw
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 8099 00658 39 3
3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อาคารสถาบัน 3 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 02-2188076 โทรสาร 02-2533543
E-mail orgre_klooi@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2545 วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2541 วท.บ. (ชีวเคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง และการเตรียมโมโนโคลนอลแอนติบอดี

7. ผลงานวิจัย

อณุมาศ บัวเขียว. 2543. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่สร้างโดย *Streptococcus zooepidemicus* UN-7. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1) Somwong, P., Suttisri, R., and **Buakeaw, A.** A new 1,3-diketofriedelane triterpene from Salacia verrucosa. *Fitoterapia.* **2011**; 82, 1047 -1051.

ผลงานวิจัยที่เสนอในการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

1) Khongarsa, K., Khongchareonporn, N., Komolpis, K., and **Buakeaw, A.** *1st ASEAN PLUS THREE GRADUATE RESEARCH CONGRESS.* 1 – 2 March **2012**, Chaing Mai,Thailand.

2) Sangdokmai, A., Pimpitak, U., **Buakeaw, A.**, Palaga, T., and Komolpis, K. Production and Characterization of Monoclonal Antibodies Against Aflatoxin M_1. *2011 International Conference on Environmental, Biomedical and Biotechnology IPCBEE.* 16. IACSIT **2011**, Singapore.

3) Tesvichian, S., Komolpis, K., Khongchareonporn, N., Puthong, S., Pimpitak, U., and **Buakeaw, A.** Development of Tetracycline Test Kit Using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Technique. *The 3rd Technology and Innovation for Sustainable Development International Conference.* (TISD2010). 4 – 6 March **2010**, Faculty of Engineering, Khon Kaen University, Thailand.