

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ของสารสกัดด้วยน้ำใบเชียงน้อย
ใบหัวใจทศกัณฐ์ และใบทางไหล

Antioxidant Activity and Cytotoxicity against Human Cancer Cell Lines of the Aqueous
Leaf Extracts of *Smilax luzonensis*, *Hoya kerrii* and *Derris elliptica*

เบญจวรรณ คุณขุนทด¹ และ พัชรวรรณ สิทธิศาสตร์^{2*}

Benjawan Dunkhunthod¹ and Patcharawan Sittisart^{2*}

¹สาขาการแพทย์แผนไทย คณะพยาบาลศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

²สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ

¹Thai Tradition Medicine Program, Faculty of Nursing and Allied Health Sciences, Phetchaburi Rajabhat University

²Division of Environmental Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Sisaket Rajabhat University

*E-mail: patcwan07@gmail.com

Received: Jan 27, 2022

Revised: Mar 10, 2022

Accepted: Mar 16, 2022

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ ซึ่งได้แก่ เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) ของสารสกัดด้วยน้ำของใบเชียงน้อย ใบหัวใจทศกัณฐ์ และใบทางไหล สารสกัดถูกตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ DPPH รวมถึงการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ด้วยวิธี MTT ผลการศึกษาพบว่าทั้งปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบสูงสุดในสารสกัดใบทางไหล รองลงมาคือสารสกัดใบเชียงน้อยและสารสกัดใบหัวใจทศกัณฐ์ ตามลำดับ สารสกัดใบทางไหลก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ทั้งหมดที่ใช้ในการทดสอบมากกว่าสารสกัดใบเชียงน้อยและใบหัวใจทศกัณฐ์ ตามลำดับ สารสกัดใบทางไหลมีความเป็นพิษสูงสุดต่อเซลล์ Jurkat ($IC_{50} = 0.20$ mg/mL) รองลงมาคือ เซลล์ MCF-7 ($IC_{50} = 0.42$ mg/mL) และเซลล์ HepG2 ($IC_{50} = 0.76$ mg/mL) ตามลำดับ การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของเพียร์สันแสดงให้เห็นว่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดใบทางไหลมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูง ทำให้มีศักยภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ที่ใช้ทดสอบทั้งหมด

คำสำคัญ: ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ความเป็นพิษต่อเซลล์ เซลล์มะเร็งมนุษย์

Abstract

This study aimed to evaluate the antioxidant activity and cytotoxic effect against various human cancer cell lines including HepG2, Jurkat and MCF-7 of the water leaf extracts of *Smilax luzonensis* (SLE), *Hoya kerrii* (HKE) and *Derris elliptica* (DEE). The extracts were used to evaluate total phenolics content (TPC), total flavonoids content (TFC), and antioxidant activity by using FRAP and DPPH assays. They were also tested for *in vitro* cytotoxic effect on human cancer cell lines by MTT assay. The results showed that the highest TPC, TFC and antioxidant activity were found in DEE, followed by SLE and HKE, respectively. DEE exhibited higher cytotoxicity to all tested human cancer cell lines than SLE and HKE, respectively. DEE showed the highest cytotoxic activity against jurkat ($IC_{50} = 0.20$ mg/mL), followed by MCF-7 ($IC_{50} = 0.42$ mg/mL) and HepG2 ($IC_{50} = 0.76$ mg/mL), respectively. Pearson's correlation analysis indicated that TPC and TFC related to antioxidant activities of the extracts. The results suggested that DEE possessed

high contents of TPC and TFC, thus having high antioxidant potential and cytotoxicity to all tested human cancer cell lines.

Keywords: Phenolics, Flavonoids, Antioxidant activity, Cytotoxicity, Human cancer cell line

1. บทนำ

ปัจจุบันโรคมะเร็งมีอุบัติการณ์และการเสียชีวิตสูงเป็นอันดับต้น ๆ ของโลก จากการรายงานของสถาบันวิจัยมะเร็งแห่งชาติดังกล่าวของอนามัยโลก พบว่าในปี พ.ศ. 2563 มีผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่สูงถึง 19.3 ล้านคน และมีผู้เสียชีวิตจากมะเร็งเกือบ 10 ล้านคน โดยคาดว่าจะมีผู้ป่วยมะเร็งถึง 28.4 ล้านคนในปี พ.ศ. 2567 ซึ่งเพิ่มขึ้นถึง 47% จากปี 2563 [1] โรคมะเร็งจัดเป็นโรคที่เป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย และเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 อัตราการตายจากมะเร็งได้เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เป็น 78.9, 84.9 และ 91.1 ต่อประชากร 100,000 คน ในปี พ.ศ. 2546, 2550 และ 2553 ตามลำดับ [2] โรคมะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากเซลล์ปกติเกิดการกลายพันธุ์ในระดับยีนและแปรสภาพกลายเป็นเซลล์มะเร็งโดยมีลักษณะที่สำคัญคือ เซลล์มีการแบ่งตัวอย่างควบคุมไม่ได้จนเกิดการรุกรานไปยังเนื้อเยื่ออื่นที่อยู่รอบข้างและแพร่กระจายไปทั่วร่างกายได้ [3] จากลักษณะที่กล่าวมานี้ นักวิจัยจึงนำมาเป็นเป้าหมายในการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งการรักษาโรคมะเร็งด้วยยาเคมีบำบัดหรือรังสีรักษามักจะส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติของร่างกาย [4]

สารสกัดจากธรรมชาติได้ถูกนำมาใช้เป็นยาสำหรับรักษาโรคมะเร็งมาอย่างยาวนานและสารเหล่านั้นก็ประกอบไปด้วยสารพฤกษเคมีต่าง ๆ ที่ปัจจุบันถูกสกัดเพื่อนำมาเป็นยาเพื่อใช้ในการบำบัดรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็ง [5] โดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากจะมีฤทธิ์สำคัญในการต้านอนุมูลอิสระแล้ว [6] ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการรักษาโรคหรืออาการต่าง ๆ ได้อีกด้วย เช่น ฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ ต้านแบคทีเรีย ต้านเบาหวาน ต้านการอักเสบ และต้านมะเร็ง เป็นต้น [7] โดยพบว่ายาที่ใช้รักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งมากกว่าร้อยละ 50 ได้มาจากแหล่งธรรมชาติทั้งสิ้น [8] ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาทั้งหมดสารสกัดจากพืชสมุนไพรจึงถูกพิจารณาเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับทดแทนสารสังเคราะห์ที่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อสุขภาพร่างกาย อีกทั้งยังมีราคาค่อนข้างสูงอีกด้วย

มีรายงานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนถึงฤทธิ์ของพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ

เช่น ราก ต้น และใบของข่า (*Alpinia nantoensis*) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) [9] ใบ และดอกของทานตะวัน (*Pulicaria undulate*) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) [10] และสาร andrographolide ซึ่งสกัดจากฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat cells) [11] เป็นต้น

เหียงน้อย (*Smilax luzonensis* C. Presl.) หัวใจทศกัณฐ์ (*Hoya kerrii* Craib) และหางไหล (*Derris elliptica* (Roxb.) Benth.) เป็นพืชสมุนไพรที่พบในป่าชุมชนโนนใหญ่ อ.โพธิ์ศรีสุวรรณ จ.ศรีสะเกษ ซึ่งป่าดังกล่าวอุดมสมบูรณ์ไปด้วยสมุนไพรนานาชนิด ที่คนในชุมชนใช้ประโยชน์ด้วยการนำมาทำเป็นตำรายารักษาโรค อาหาร สมุนไพรสำหรับสัตว์เลี้ยง รวมถึงประโยชน์ด้านอื่น ๆ อีกด้วย จากการสืบค้นพบว่าเหียงน้อยยังขาดข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง Sittisart et al. [12] พบว่าสารสกัดจากใบหัวใจทศกัณฐ์ด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ Sittisart et al. [13] ยังรายงานว่าสารสกัดจากหางไหลด้วยเอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษของสารสกัดด้วยน้ำจากใบเหียงน้อย ใบหัวใจทศกัณฐ์ และใบหางไหลต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) ซึ่งเป็นมะเร็งที่พบได้มากเป็นอันดับต้น ๆ ในคนไทย

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. สารเคมี

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), (+)-catechin hydrate และ Vitamin C ได้จาก Fluka Chemie GmbH, Buchs, Switzerland; Penicillin G, Streptomycin sulfate และ 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) ได้จาก SigmaAldrich, St. Louis, MO, USA; Dimethyl sulfoxide (DMSO) ได้จาก Amresco Inc., Solon, OH, USA; Quercetin dehydrate ได้จาก INDOFINE

Chemical Company, Inc., Hillsborough, NJ; 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) ได้จาก Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany; RPMI medium 1640 และ DMEM high glucose ได้จาก Gibco Invitrogen, Grand Island, NY, USA; Fetal bovine serum (FBS) ได้จาก Hyclone, Logan, UT, USA ส่วนสารเคมีที่ใช้ในการทดลองนอกเหนือจากที่กล่าวถึงสั่งซื้อจาก Sigma-Aldrich

2.2. ตัวอย่างพืชสมุนไพรและการเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร

เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรจำนวน 3 ชนิด จากป่าชุมชนโนนใหญ่ อ.โพธิ์ศรีสุวรรณ จ.ศรีสะเกษ เขตหมู่บ้านหนองมนรัมย์ หมู่ที่ 15 ได้แก่ ใบเชือกน้อย (*Smilax luzonensis* C. Presl.) ใบหัวใจศกัณฐ์ (*Hoya kerrii* Craib) และใบทางไหล (*Derris elliptica* (Roxb.) Benth.) คัดเลือกใบที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ไม่เป็นโรค นำไปล้างด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วสกัดสดในน้ำกลั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ในอัตราส่วน 1 : 4 (กรัมต่อมิลลิลิตร) ตั้งพักไว้เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยผ้าก๊อชที่พับซ้อนกัน 3 - 4 ชั้น ตามด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นนำสารสกัดไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน (Buchi Labortechnik AG, Tokyo, Japan) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และขึ้นรูปให้เป็นผงด้วยเครื่องระเหยแห้ง (Freeze Dryers CHRIST, Osterode am Harz, Germany) ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล และเก็บสารสกัดหยาบของใบเชือกน้อย (SLE) ใบหัวใจศกัณฐ์ (HKE) และใบทางไหล (DEE) ไว้ในตู้ -20 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

2.3. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolics content: TPC)

ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในแต่ละสารสกัดถูกตรวจสอบด้วยวิธี Folin Ciocateau ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Rupasinghe et al. [14] ดังนั้น สารทดสอบแต่ละชนิดถูกเตรียมสดภายใต้สภาวะที่มีแสง และขั้นตอนของการทำปฏิกิริยาถูกทำในที่มืด เริ่มต้นด้วยการเติม 20 ไมโครลิตรของสารสกัดลงไปเพื่อผสมกับ 100 ไมโครลิตร ของ 0.2 นอร์มอล (Normal) ของน้ำยา Folin-Ciocalteu ที่อยู่ใน 96 well plate ตามด้วยการบ่มเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติม 80 ไมโครลิตร ของ 7.5% (W/V) sodium carbonate ลงไป ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงของ

สารสกัดที่ 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader (Benchmark, Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA) จากนั้นนำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.05 และ 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of gallic acid equivalent/g of extract)

2.4. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ปริมาณรวมของสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids content: TFC) ถูกตรวจสอบโดยวิธี aluminium trichloride colorimetric โดยดัดแปลงมาจาก Settharaksa et al. [15] ดังนี้ เติมน้ำ 25 ไมโครลิตร ของสารตัวอย่างลงไปใน 96 well plate ตามด้วยน้ำกลั่น (DI water) 125 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 5% NaNO_2 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที เติมน้ำ 10% ของสารละลาย AlCl_3 ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ลงไป ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้องอีกเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมน้ำ 1 โมลาร์ (Molar) ของ NaOH ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารคาเทชิน (0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของสารคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด (mg of catechin equivalent/g of extract)

2.5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างตรวจวัดได้โดยการใช้อนุมูลอิสระเสถียร 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ซึ่งสอดคล้องกับวิธีการของ Rupasinghe et al. [14] มีขั้นตอนดังนี้ เตรียมส่วนผสมของน้ำยา FRAP ได้แก่ 300 มิลลิโมลต่อลิตร ของสารละลาย acetate buffer (pH 3.6), 10 มิลลิโมลต่อลิตร ของสารละลาย TPTZ และ 20 มิลลิโมลต่อลิตร ของสารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (เตรียมใหม่ทุกครั้งในการทดลอง) นำส่วนผสมของสารทั้ง 3 ชนิด ผสมรวมกันด้วยอัตราส่วน 10:1:1 (V/V/V) ดังนั้นเริ่มต้นด้วยการเติมน้ำยา FRAP (180 ไมโครลิตร) ลงไปใน 96 well plate ที่มี 20 ไมโครลิตร ของ blank สารมาตรฐาน หรือสารสกัด ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที ก่อนวัด

ค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ให้อ่าน 96 well plate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง Microplate reader แล้วนำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารโทรลอกซ์ (0.5, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของสารโทรลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัด (mg of trolox equivalent/g of extract)

2.6. การตรวจสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH scavenging activity)

การทดลองนี้ถูกค้นพบและอธิบายโดย Yang et al. [16] มีขั้นตอนดังนี้ ทุกความเข้มข้นของสารตัวอย่าง และสารมาตรฐานวิตามินซี (vitamin C) และโทรลอกซ์ (trolox) ถูกเตรียมใน 100% methanol ทุกตัวอย่างจะถูกเติม ผสม และวัดค่าการดูดกลืนแสงใน 96 well plate เริ่มต้นด้วยการเติมแต่ละความเข้มข้นของสารมาตรฐาน หรือ ตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามด้วย 100 ไมโครลิตร ของ DPPH ที่ละลายใน 100% methanol ที่มีค่าความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.2 มิลลิโมลาร์ ผสมสารทุกชนิดให้เข้ากัน บ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader รายงานฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง เป็นค่า IC₅₀ (ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระชนิด DPPH ได้ 50%) ซึ่งทำได้โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % ของการทำลายอนุมูลอิสระชนิด DPPH กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง โดยสามารถคำนวณหา % ของการทำลายอนุมูลอิสระชนิด DPPH ด้วยสูตรนี้

DPPH radical scavenging activity (%) =

$$(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

A_{sample} และ A_{control} คือค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่าง และกลุ่มควบคุมตามลำดับ การลดลงของค่าการดูดกลืนสารละลาย DPPH บ่งบอกถึงการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ

2.7. ชนิดของเซลล์มะเร็งและการเพาะเลี้ยงเซลล์

ใช้เซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งตับสายพันธุ์ HepG2 (Human hepatocyte carcinoma cell line, ATCC, USA), เซลล์มะเร็งเต้านมสายพันธุ์ MCF-7 (Human breast

adenocarcinoma cell line, ATCC, USA) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวสายพันธุ์ Jurkat (Human T cell leukemia Jurkat cells, Cell Lines Service, Germany) สำหรับการตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อเซลล์มะเร็ง เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับสายพันธุ์ HepG2 และเซลล์มะเร็งเต้านมสายพันธุ์ MCF-7 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM high glucose และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวสายพันธุ์ Jurkat ในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 อาหารเลี้ยงเซลล์ทั้งสองชนิดมีส่วนประกอบเพิ่มเติมด้วย 10% heat-inactivate fetal bovine serum (FBS), 100 ยูนิตต่อมิลลิตร ของ penicillin และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ของ streptomycin บ่มเซลล์ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ในระบบคาร์บอนไดออกไซด์ (Thermo fisher scientific, Langenselbold, Germany) ภายใต้สภาวะ 37 องศาเซลเซียส 5% CO₂ โดยเลี้ยงเซลล์จนกระทั่งเซลล์เจริญเติบโตคิดเป็น 80% confluence ของพื้นที่ flask ที่ใช้เลี้ยงเซลล์ทุกครั้ง ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

2.8. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อเซลล์มะเร็ง

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) ทำได้ด้วยวิธี MTT และดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sittisart et al. [17] ดังนี้ เติมเซลล์ HepG2 และ MCF-7 จำนวน 2.5x10⁴ เซลล์ ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ลงไปใน 96 well plate และบ่มข้ามคืนภายใต้สภาวะ 37 องศาเซลเซียส 5% CO₂ เพื่อให้เซลล์ยึดติดกับพื้นที่ผิวของ 96 well plate จากนั้นเติมเซลล์ Jurkat จำนวน 2.5x10⁴ เซลล์ ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ลงไปใน 96 well plate เติมสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดลงไป โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายของแต่ละสารสกัดต่อชนิดของเซลล์เป็นดังนี้ HepG2 + SLE (1, 3 หรือ 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), Jurkat + SLE (1, 3 หรือ 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), MCF-7 + SLE (1, 3 หรือ 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), HepG2 + HKE (1, 3 หรือ 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), Jurkat + HKE (1, 3 หรือ 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), MCF-7 + HKE (1, 3 หรือ 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), HepG2 + DEE (0.25, 0.50 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), Jurkat + DEE (0.05, 0.20 หรือ 0.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร), MCF-7 + DEE (0.25, 0.50 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร) จากนั้นบ่มเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมสารละลาย MTT (0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร) ลงไป และบ่มเซลล์เป็นเวลาอีก 4 ชั่วโมง นำ 96 well plate ไปปั่นเหวี่ยงที่ 400xg, 4

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ที่อาหารเลี้ยงเซลล์ที่อยู่ใน 96 well plate แล้วเติม DMSO ลงไปเพื่อละลาย formazan crystal ให้อยู่ในรูปของสารละลายสีม่วง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader และคำนวณค่าร้อยละของเซลล์มีชีวิตที่รอดชีวิตจากสมการนี้ คือ ร้อยละของเซลล์ที่รอดชีวิต = (ค่าเฉลี่ยของค่าดูดกลืนแสงในกลุ่มตัวอย่าง $\times 100$) / ค่าเฉลี่ยของค่าดูดกลืนแสงในกลุ่มควบคุม

2.9. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลการทดลองทั้งหมดแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ SD ($n = 3$) และวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics version 28 ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดลองที่ได้ด้วย One Way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้วิธี *Post hoc* Tukey และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์ด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1. ร้อยละของสารสกัดหยาบที่ได้กลับคืนมาจากใบพืชสด

ผลจากการสกัดพืชสมุนไพรสดด้วยวิธีการปั่นในตัวทำละลายน้ำ ดังแสดงใน Table 1 ปริมาณของสารสกัดจากใบหางไหล (DEE) สารสกัดจากใบเช็งน้อย (SLE) และใบหัวใจทศกัณฐ์ (HKE) คิดเป็นร้อยละ 3.73, 2.92 และ 1.26 ของน้ำหนักสดของพืช (Percentage of recovery) ตามลำดับ จะเห็นว่าสารสกัดใบหางไหล (DEE) มีปริมาณสารสกัดต่อน้ำหนักสดสูงสุด แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายน้ำเหมาะสมในการสกัดใบหางไหลมากที่สุด และเนื่องจากใบหัวใจทศกัณฐ์เป็นพืชอวบน้ำ มีค่าความชื้นสูงถึง 91.68% [12] ดังนั้นน้ำหนักเริ่มต้นของใบพืชส่วนใหญ่จึงมาจากน้ำ ส่งผลให้มีปริมาณสารสกัดต่อน้ำหนักสดต่ำที่สุด

3.2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากใบเช็งน้อย สารสกัดจากใบหัวใจทศกัณฐ์ และสารสกัดจากใบหางไหล ดังแสดงใน Table 2 พบว่าสารสกัดจากใบหางไหลมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์

ทั้งหมด มากกว่าสารสกัดจากใบเช็งน้อย และใบหัวใจทศกัณฐ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยประมาณครึ่งหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากใบหางไหลเป็นสารจำพวกฟลาโวนอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่าสารสกัดจากใบหางไหลด้วยเอทานอล 95% มีสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ tannic acid, gallic acid, isoquercetin, rutin, catechin, quercetin และ apigenin [13]

Table 1 The percentage of recovery of crude extracts from fresh leaves of plants

Samples	Amount of fresh leaves (g)	Yield (g)	Percentage of recovery
SLE	119.18	3.48	2.92
HKE	797.20	10.06	1.26
DEE	716.20	26.75	3.73

SLE = *Smilax luzonensis* C. Presl. extract

HKE = *Hoya kerrii* Craib extract

DEE = *Derris elliptica* (Roxb.) Benth. Extract

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากใบเช็งน้อยและใบหัวใจทศกัณฐ์ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) Sittisart et al. [12] รายงานปริมาณรวมฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดเอทานอล 95% ของใบหัวใจทศกัณฐ์เป็น 61.69 mgGAE/g และ 15.99 mgCAE/g ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำในครั้งนี้มาก ปัจจัยที่ทำให้ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบหัวใจทศกัณฐ์ด้วยเอทานอล 95% สูงกว่าที่สกัดด้วยน้ำ อาจเนื่องมาจาก องค์ประกอบสารในใบหัวใจทศกัณฐ์ส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกฟลาโวนอยด์ จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าตัวทำละลายเอทานอลจะสามารถสกัดสารจำพวกฟลาโวนอยด์ออกมาได้ดีกว่าตัวทำละลายน้ำ [18] นอกเหนือจากการใช้ตัวทำละลายที่ต่างกันในการสกัดแล้ว วิธีการสกัดและระยะเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดใบหัวใจทศกัณฐ์ด้วยเอทานอล 95% และน้ำยังมีความแตกต่างกันอีกด้วย โดยการสกัดใบหัวใจทศกัณฐ์ด้วยเอทานอล 95% มีการบ่มใบหัวใจทศกัณฐ์ในตัวทำละลายเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง โดยมีการเปลี่ยนตัวทำละลายทุก ๆ 24 ชั่วโมง ในขณะที่การสกัดด้วยน้ำใช้การปั่นตัวทำละลายกับใบหัวใจทศกัณฐ์ ทำให้ระยะเวลาในการ

สัมผัสกับตัวทำละลายค่อนข้างน้อย ดังนั้นวิธีการสกัดและระยะเวลาในการสกัดจึงน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลให้สารสกัดใบหัวใจเทศกัญธุ์ด้วยเอทานอล 95% มี

ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สูงกว่าสารสกัดใบหัวใจเทศกัญธุ์ด้วยน้ำ

Table 2 Total phenolics, total flavonoids content and antioxidant activities of SLE, SKE and DEE

Samples	TPC (mgGAE/g)	TFC (mgCAE/g)	FRAP value (mgTRE/g)	DPPH Scavenging activity (IC ₅₀ µg/mL)
SLE	25.55±0.14 ^a	1.99±0.63 ^a	20.88±1.10 ^a	16,776.06±126.12 ^b
HKE	24.99±0.14 ^a	1.29±0.15 ^a	4.35±0.26 ^a	32,718.71±160.76 ^c
DEE	303.06±23.10 ^b	157.21±47.79 ^b	354.84±17.93 ^b	215.98±11.73 ^a
Vitamin C	-	-	-	0.57±0.02 ^a
Trolox	-	-	-	6.66±0.09 ^a

Means in the same column with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

3.3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากใบเช็งน้อย สารสกัดจากใบหัวใจเทศกัญธุ์ และสารสกัดจากใบหางไหล ด้วยวิธี FRAP โดยดูจากความสามารถในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ กำจัดโลหะหนักจำพวก Fe^{2+} และ Cu^{+} ยับยั้งเอนไซม์ที่กระตุ้นการเกิดอนุมูลอิสระ ดังแสดงใน Table 2 พบว่าสารสกัดจากใบหางไหล มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนมากกว่าสารสกัดจากใบเช็งน้อย และใบหัวใจเทศกัญธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ และเมื่อเปรียบเทียบค่า FRAP value ของสารสกัดจากใบเช็งน้อยและใบหัวใจเทศกัญธุ์ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

3.4. ผลการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด รวมถึงสารมาตรฐาน (Vitamin C และ trolox) ถูกแสดงด้วยค่า IC₅₀ ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถทำลายอนุมูลอิสระได้ 50% ดังแสดงใน Table 2 ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบหางไหลมีค่า IC₅₀ ต่ำกว่าสารสกัดจากใบเช็งน้อย และใบหัวใจเทศกัญธุ์ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ดังนั้นสารสกัดจากใบหางไหลจึงมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดจากใบเช็งน้อยและใบหัวใจเทศกัญธุ์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดทั้ง 3 ชนิดกับสารมาตรฐาน vitamin C และ trolox พบว่าสารสกัดจากใบหางไหลมีฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระเทียบเท่าสารมาตรฐาน

ทั้ง 2 ชนิด ($p \geq 0.05$) ในขณะที่สารสกัดจากใบเช็งน้อยและใบหัวใจเทศกัญธุ์มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิด DPPH ได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน vitamin C และ trolox อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ถึงแม้ว่าการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการศึกษาครั้งนี้จะใช้กลไกต่างกัน ได้แก่ FRAP และ DPPH ก็ยังพบว่าสารสกัดจากใบหางไหลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด

3.5. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สันแสดงใน Figure 1A-1F พบว่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดมีความสัมพันธ์แปรผันตรงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP โดยมีค่า $r = 0.999$ (Figure 1A และ 1B) แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และยังพบว่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดมีความสัมพันธ์แปรผกผันกับการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $r = -0.872$ และ -0.873 ตามลำดับ (Figure 1C และ 1D) เป็นการยืนยันว่าปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดมีความสัมพันธ์กับการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เช่นกัน

จากผลการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สันเป็นการยืนยันความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาเป็นจำนวนมากที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ [19] ทั้งนี้ยังพบว่าปริมาณฟีนอลิกมีความสัมพันธ์แปรผันตรงกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพร ($r = 0.999$, Figure 1E) รวมไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อ

ทดสอบด้วยวิธี FRAP และ DPPH ($r = -0.891$, Figure 1F) จึงแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัด รวมไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด แม้ว่าการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการศึกษาครั้งนี้จะใช้กลไกที่แตกต่างกันโดยวิธีทดสอบ FRAP และ DPPH

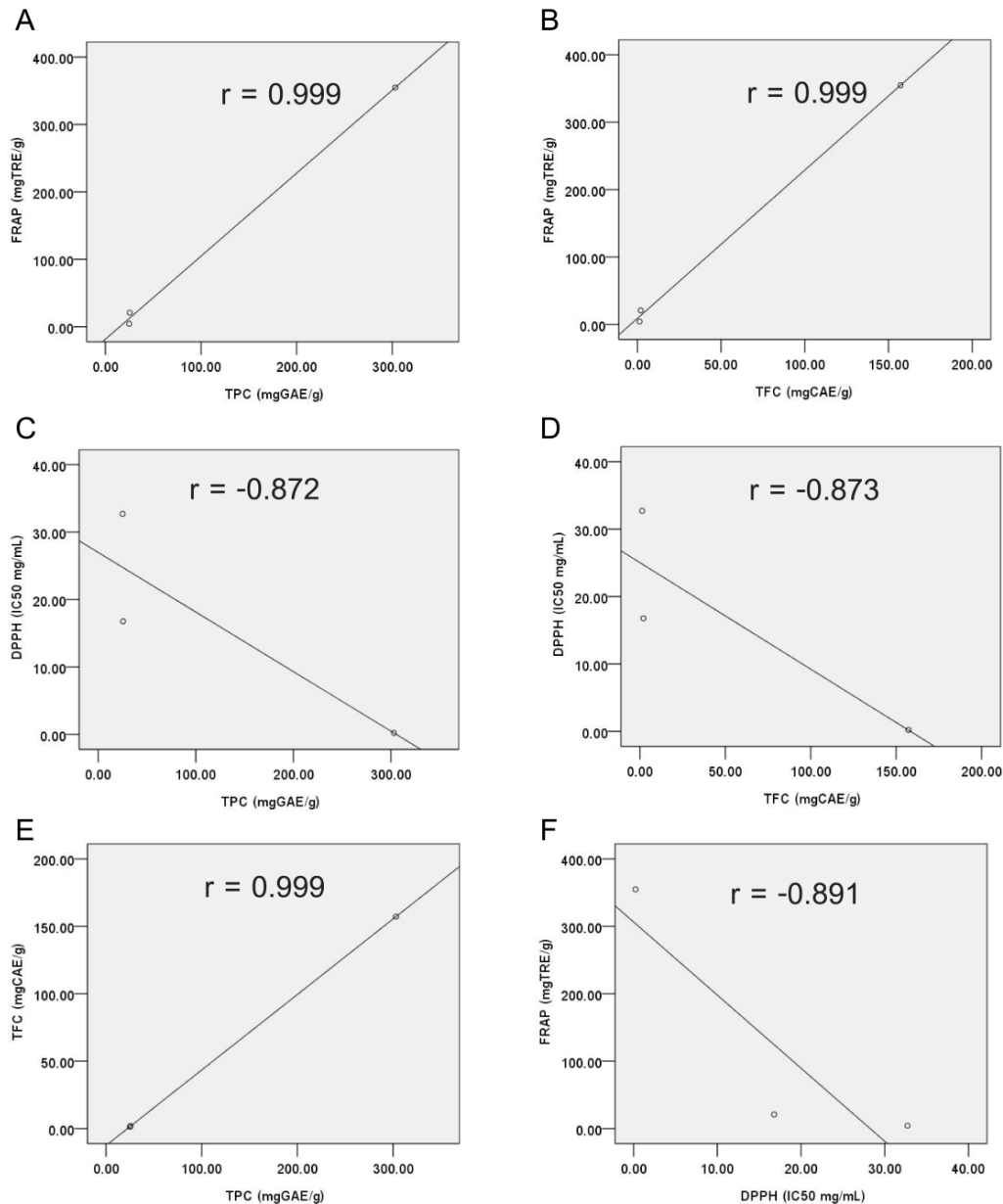


Figure 1 Scatter plot of Pearson correlation of the relationship between antioxidant activities and phenolic compounds

3.6. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อความเป็นพิษของเซลล์มะเร็งมนุษย์

การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) ของสารสกัดจากใบเช็งน้อย (Figure 2A-2C) ใบหัวใจทศกัณฐ์ (Figure 2D-2F) และใบหางไหล (Figure 2G-2I) โดยประเมินจากค่าร้อยละการมีชีวิตอยู่รอดของเซลล์

Figure 2A-2C แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดใบเช็งน้อย (SLE) ต่อเซลล์มะเร็งที่มากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด (9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่งผลให้ค่าร้อยละการมีชีวิตอยู่รอดของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) ลดลงเป็น 76.58%, 26.25% และ 69.80% ตามลำดับ

Figure 2D-2F แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบหัวใจทศกัณฐ์ (HKE) ในทุกความเข้มข้นไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HepG2 และ MCF-7 แม้จะให้ความเข้มข้นของสารสูงถึง 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรก็ตาม ในขณะที่เมื่อให้สารสกัดจากใบหัวใจทศกัณฐ์ (9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับเซลล์มะเร็ง Jurkat ปรากฏว่าค่าร้อยละการมีชีวิตอยู่รอดของเซลล์มะเร็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ เป็น 33.17 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Figure 2G-2I แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดจากใบหางไหล (DEE) ก่อให้เกิดความเป็นพิษที่เพิ่มขึ้นกับเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงสุด ส่งผลให้ค่าร้อยละการมีชีวิตอยู่รอดของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) ลดลงเป็น 35.57%, 3.51% และ 32.65% ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ทำให้เกิดการตายของเซลล์ 50% (IC_{50}) (Table 3) พบว่าสารสกัดใบหางไหล (DEE) มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสามชนิดสูงกว่าสารสกัดจากใบเช็งน้อย และใบหัวใจทศกัณฐ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยสารสกัดใบหางไหลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง HepG2, Jurkat และ MCF-7 ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.76, 0.20 และ 0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดจากใบเช็งน้อย ใบหัวใจทศกัณฐ์และใบหางไหลก่อให้เกิดความเป็นพิษสูงสุดต่อเซลล์มะเร็ง Jurkat อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับเซลล์มะเร็ง HepG2 และ MCF-7 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sittisart et al. [13] ที่พบว่าสารสกัด

ด้วยเหทานอล 95% ของใบหางไหลมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง Jurkat ($IC_{50} = 0.06$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สูงที่สุดเมื่อเทียบกับเซลล์มะเร็ง HepG2 และ MCF-7 นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบหางไหลยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์ (PBMC) เมื่อเทียบกับเซลล์มะเร็ง HepG2, Jurkat และ MCF-7 ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สูงว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบหางไหลจะมีความเฉพาะเจาะจงในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง และมีความปลอดภัยต่อเซลล์ปกติ

หางไหลพบได้ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และในทางการเกษตรนิยมใช้รากของหางไหลเป็นยาพิษสำหรับเบื่อปลาหรือเป็นสารกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากมีสารพิษชนิดหนึ่งที่มีชื่อว่า rotenone ที่ค่อนข้างไม่เป็นพิษต่อสัตว์เลือดอุ่น เช่น มนุษย์ และสลายตัวได้ง่าย ไม่ติดค้างอยู่บนพืชผักเหมือนสารสังเคราะห์ [20] Cunningham et al. [21] พบว่า rotenone มีผลไปลดระดับของเซลล์มะเร็งตับในหนูเมาส์ชนิด B6C3F1 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Liu et al. [22] ที่ค้นพบว่า rotenone ที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นสามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (A-549) มะเร็งต่อมลูกหมาก (DU-145) และมะเร็งในช่องปาก (KB) เป็นต้น นอกจากนี้ Fang et al. [23] ยังสามารถแยกสารสำคัญในหางไหล ได้แก่ rotenone และ tephrosin โดยพบว่า rotenone มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *C. diploidiell* ส่วน tephrosin สามารถยับยั้งเนื้องอกของมะเร็งบางชนิด ได้แก่ มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HCT-8) มะเร็งตับ (BEL-7402) และมะเร็งรังไข่ (A2780) ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าสารสกัดจากใบหางไหลมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) เช่นเดียวกัน แต่ต่างกันที่สายพันธุ์ของมะเร็งตับที่ใช้เท่านั้น ดังนั้นเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ อาจเนื่องมาจากสารสำคัญ rotenone และ tephrosin ที่อาจเป็นองค์ประกอบในสารสกัดน้ำของใบหางไหล นอกจากนี้สารสกัดจากใบหางไหลยังประกอบไปด้วยสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง ดังนั้นฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากใบหางไหล อาจเนื่องมาจากสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เนื่องจากมีงานวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นว่าสารเหล่านี้นอกจากจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งอีกด้วย [7], [24] ในขณะที่สารสกัดจากใบเช็งน้อยและใบหัวใจทศกัณฐ์ต้องใช้ความเข้มข้นสูงมากจึงจะสามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์มะเร็ง HepG2 และ MCF-7 ดังนั้นเช็งน้อยและหัวใจทศกัณฐ์จึงเป็นพืช

ที่น่าจะมีความปลอดภัยสูง ไม่เหมาะกับการวิจัยและพัฒนาทาง
ทางด้านมะเร็ง โดยเฉพาะในโมเดลของการตายแบบอะพอพโทซิส
(apoptosis) แต่อาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพด้านอื่น ๆ เช่น สารสกัด
ด้วยเอทานอลของใบหัวใจเทศกัญธรุ่นนอกจากจะมีฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระ ยังมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ปกป้องเบต้าเซลล์ของ
ตับอ่อน และลดระดับของน้ำตาลในเลือดของหนูที่ถูกชักนำให้
เป็นเบาหวาน เป็นต้น [12], [17]

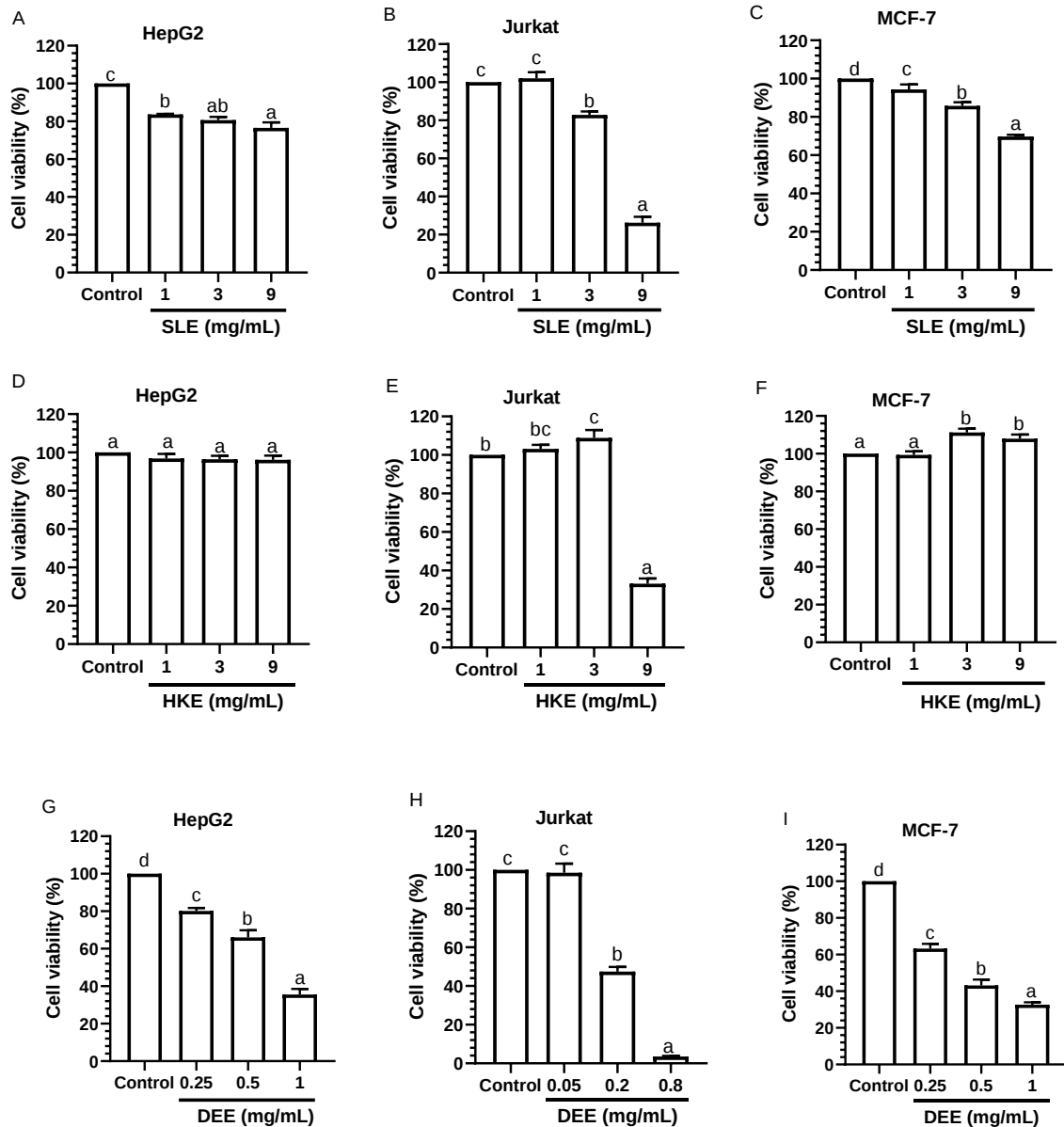


Figure 2 Cytotoxic effect of SLE (2A-2C), HKE (2D-2F) and DEE (2G-2I) against three different human cancer cell lines (HepG2, Jurkat and MCF-7). All controls are cells alone in media.

Bars in the same graph with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Table 3 IC₅₀ of plant extracts against human cancer cells (HepG2, Jurkat and MCF-7)

Extracts	IC ₅₀ ± SD (mg/mL)		
	HepG2	Jurkat	MCF-7
SLE	>9	6.50±0.16 ^b	>9
HKE	>9	7.61±0.17 ^c	>9
DEE	0.76±0.03 ^C	0.20±0.08 ^{a,A}	0.42±0.02 ^B

Means in the same column with different superscript lowercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

Means in the same row with different superscript uppercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

4. บทสรุป

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) ของสารสกัดด้วยน้ำใบเชือกน้อย ใบหัวใจศกัณฐ์ และใบหางไหล พบว่าสารสกัดใบหางไหลมีสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ปริมาณสูงที่สุด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อประเมินโดยวิธี FRAP และ DPPH สูงสุด สารสกัดใบหางไหลยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) สูงกว่าสารสกัดจากใบเชือกน้อย และใบหัวใจศกัณฐ์ โดยเฉพาะมีความไวต่อการเกิดพิษในเซลล์มะเร็ง Jurkat มากกว่าเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) ดังนั้นหางไหลจึงเป็นพืชที่มีศักยภาพในการวิจัยและพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์หรือสารที่ใช้สำหรับรักษาโรคมะเร็งในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนส่วนหนึ่งจากงบวิจัยเงินรายได้มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ ประจำปีงบประมาณ 2559 (20-59-1)

6. References

- [1] Sung, H. and et al. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 71(3): 209-249.
- [2] Imsamran, W. and et al. 2014. **Cancer**. <http://training.dms.moph.go.th/rtcd/storage/app/uploads/public/59b/9e7/953/59b9e795336bef196682686.pdf>. Accessed 10 January 2022. (in Thai)
- [3] Gyamfi, J., Kim, J. and Choi, J. 2022. Cancer as a metabolic disorder. *International Journal of Molecular Sciences*. 23: 1155.
- [4] Bidram, E. and et al. 2019. A concise review on cancer treatment methods and delivery systems. *Journal of Drug and Delivery Science and Technology*. 54: 101350.
- [5] Johnson, S.B. and et al. 2018. Use of alternative medicine for cancer and its impact on survival. *Journal of the National Cancer Institute*. 110(1): 121-124.
- [6] Morarach, A. and Hemathulin, S. 2021. Physical properties, phenolic contents and antioxidant activity of Mao Luang. *Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University*. 23(3): 70-79. (in Thai)
- [7] Muniyandi, K. and et al. 2019. Phenolics, tannins, flavonoids and anthocyanins contents influenced antioxidant and anticancer activities of Rubus fruits from Western Ghats, India. *Food Science and Human Wellness*. 8(1): 73-81.
- [8] Costa-Lotufo, L.V. and et al. 2005. Studies of the anticancer potential of plants used in Bangladeshi folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 99(1): 21-30.
- [9] Kuo, C.Y. and et al. 2019. Ethanolic extracts of dietary herb, *Alpinia nantoensis*, exhibit anticancer potential in human breast cancer cells. *Integrative Cancer Therapies*. 18: 1534735419866924.

- [10] Emam, M.A., Khattab, H.I. and Hegazy, M.G. 2019. Assessment of anticancer activity of *Pulicaria undulate* on hepatocellular carcinoma HepG2 cell line. **Tumour Biology**. 41(10): 1010428319880080.
- [11] Doi, K. and et al. 2017. Andrographolide from the herb *Andrographis paniculata* induces apoptosis on cultured human leukemic cells. **Fujita Medical Journal**. 3(3): 48-54.
- [12] Sittisart, P., Dunkhunthod, B. and Chuea-nongthon, C. 2020. Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanolic extract from *Hoya kerrii* Craib. **Chiang Mai Journal of Science**. 47(5): 912-925.
- [13] Sittisart, P. and et al. 2019. Anti-proliferative and apoptosis-inducing activities of *Derris elliptica* (Roxb.) Benth. leaf extract on three human cancer cell lines. **Maejo International Journal of Science and Technology**. 13(1): 62-71.
- [14] Rupasinghe, H.P.V. and et al. 2008. Effect of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. **Food Chemistry**. 107(3): 1217-1224.
- [15] Settharaksa, S. and et al. 2014. Effect of solvent types on phenolic, flavonoid contents and antioxidant activities of *Syzygium gratum* (weight) S.N. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science**. 6(2): 114-116
- [16] Yang, H. and et al. 2011. Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. **Molecules**. 16(4): 3444-3455.
- [17] Sittisart, P. and et al. 2021. Cytoprotective and hypoglycemic activities of ethanol extract of *Hoya kerrii* Craib Leaf. **Chiang Mai Journal of Science**. 48(2): 395-404.
- [18] Lyu, J.I. and et al. 2022. Comparative study on phenolic compounds and antioxidant activities of Hop (*Humulus lupulus* L.) strobile extracts. **Plants**. 11(1): 135.
- [19] Speisky, H. and et al. 2022. Revisiting the oxidation of flavonoids: Loss, conservation or enhancement of their antioxidant properties. **Antioxidants**. 11(1): 1-28.
- [20] Sae-Yun, A. and et al. 2006. Extraction of rotenone from *Derris elliptica* and *Derris malaccensis* by pressurized liquid extraction compared with maceration. **Journal of Chromatography A**. 1125(2): 172-176.
- [21] Cunningham, M.L. and et al. 1995. Rotenone, an anticarcinogen, inhibits cellular proliferation but not peroxisome proliferation in mouse liver. **Cancer Letters**. 95(1-2): 93-97.
- [22] Liu, Y.-Q. and et al. 2012. Design, synthesis and cytotoxic activity of novel spin-labeled rotenone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 22(2): 920-923.
- [23] Fang, Y. and et al. 2010. Antifungal and antitumor constituents in *Derris elliptica* (Roxb.) Benth. waste. **Agrochemicals**. 12: 874-875.
- [24] Tungmunthum, D. and et al. 2018. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. **Medicines**. 5(3): 93.