

สารสกัดใบสาบเสือและน้ำนมราชสีห์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้และมะเร็งท่อน้ำดี

Leaf extracts from *Chromolaena odorata* and *Euphorbia hirta* suppress the growth of colorectal and bile duct cancer cells

พรประภาวีร์ ดันติเมตตา¹, นิชาธิศม์ ไชยเมธีเวช², จัญจนก อุไรรัตน์², ดิสทัต ยงประเดิม², ธนกฤต รัตนอาชาไนย¹, สมภาพ แซ่เฮง¹ และสุมาลี อบเชย^{1,3*}

Phonprapavee Tantimettha¹, Nicharas Chaimeteveeth², Chatkanok Urairat², Dissathut Yongpraderm², Thanakrit Rattanaarchanai¹, Sompop Saeheng¹ and Sumalee Obchoei^{1,3*}

Received: 1 May 2025 ; Revised: 25 July 2025 ; Accepted: 8 August 2025

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีความสนใจในการใช้พืชสมุนไพรเป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคลหหลายชนิดรวมถึงโรคมะเร็ง เนื่องจากพืชสมุนไพรมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย และมีความเชื่อว่าอาจมีความเป็นพิษต่ำกว่ายาเคมีสังเคราะห์บางชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco-2) และเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (KKU-213A) ของสารสกัดจากใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) และใบน้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*) โดยใช้ตัวทำละลายน้ำและเอทานอล ทำให้ได้สารสกัด 4 ชนิด ได้แก่ Ch.o-W, Ch.o-EtOH, Eu.h-W และ Eu.h-EtOH ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสารสกัดทั้งสี่ชนิด ($P < 0.05$) โดย Ch.o-EtOH มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (7.18 ± 0.39 mg GAE/g DW) ตามด้วย Eu.h-EtOH (4.16 ± 0.20 mg GAE/g DW), Ch.o-W (3.16 ± 0.43 mg GAE/g DW) และ Eu.h-W (1.95 ± 0.09 mg GAE/g DW) สารสกัดทั้ง 4 ชนิดแสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งในลักษณะขึ้นกับความเข้มข้น (dose-dependent) โดยมีค่า IC_{50} ต่อเซลล์ Caco-2 อยู่ระหว่าง 0.58–1.51 mg/mL และต่อเซลล์ KKU-213A อยู่ระหว่าง 0.65–1.42 mg/mL ส่วนค่า IC_{50} ต่อเซลล์เยื่อช่องปากปกติ (NOK-SI) อยู่ในช่วง 1.03 ถึง >2.5 mg/mL โดยสรุป สารสกัดจากใบสาบเสือและใบน้ำนมราชสีห์แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้และท่อน้ำดี และมีแนวโน้มแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติ โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งแตกต่างกันตามชนิดของตัวทำละลาย ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพเบื้องต้นของสารสกัดทั้งสองชนิดในการเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ที่อาจนำไปสู่การพัฒนาสารต้านมะเร็งในอนาคต อย่างไรก็ตาม ควรมีการปรับปรุงกระบวนการสกัด การแยกและระบุสารออกฤทธิ์สำคัญ ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุล ตลอดจนการทดสอบในสัตว์ทดลองและในทางคลินิก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการนำไปใช้จริง

คำสำคัญ: พืชสมุนไพร, สาบเสือ, น้ำนมราชสีห์, มะเร็งลำไส้, มะเร็งท่อน้ำดี

Abstract

There is growing interest in the use of medicinal plants as alternative treatments for various diseases, including cancer, due to their diverse bioactive compounds and a perception of potentially lower toxicity compared to some synthetic drugs. This study aimed to evaluate the anticancer activity of extracts from *Chromolaena odorata* and *Euphorbia hirta* leaves against colorectal cancer (Caco-2) and bile duct cancer (KKU-213A) cell lines. Water and

¹ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

² โรงเรียนหาดใหญ่วิทยาลัย อำเภหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

³ ศูนย์วิจัยความเป็นเลิศทางชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University

² Hatyaiwittayalai School, Hatyai District, Songkhla Province

³ Center of Excellence for Biochemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University

* Corresponding author: Sumalee Obchoei, E-mail: sumalee.o@psu.ac.th

ethanol were used as extraction solvents, resulting in four types of extracts: Ch.o-W, Ch.o-EtOH, Eu.h-W, and Eu.h-EtOH. The total phenolic content differed significantly among the four extracts ($P < 0.05$), with Ch.o-EtOH showing the highest total phenolic content (7.18 ± 0.39 mg GAE/g DW), followed by Eu.h-EtOH (4.16 ± 0.20 mg GAE/g DW), Ch.o-W (3.16 ± 0.43 mg GAE/g DW), and Eu.h-W (1.95 ± 0.09 mg GAE/g DW). All extracts exhibited dose-dependent cytotoxic effects. The IC_{50} values for Caco-2 ranged from 0.58 to 1.51 mg/mL and for KKU-213A from 0.65 to 1.42 mg/mL. For the normal oral keratinocyte cell line (NOK-SI), IC_{50} values ranged from 1.03 to >2.5 mg/mL. In conclusion, extracts from *C. odorata* and *E. hirta* demonstrated inhibitory effects on colorectal cancer and bile duct cancer cells and tended to exhibit greater cytotoxicity toward cancer cells than normal cells, with differences in inhibitory activity depending on the extraction solvent. These findings suggest that both plant extracts have potential as sources of bioactive compounds for the development of anticancer agents. However, further studies are warranted to optimize extraction processes, identify key active compounds, elucidate mechanisms of action, and validate efficacy and safety through *in vivo* and clinical studies.

Keywords: Medicinal plants, *Chromolaena odorata*, *Euphorbia hirta*, colorectal cancer, bile duct cancer

บทนำ

ในยุคที่ความก้าวหน้าทางการแพทย์สมัยใหม่ยังคงต้องเผชิญกับความท้าทายด้านประสิทธิภาพ การเกิดผลข้างเคียงที่รุนแรง และค่าใช้จ่ายการรักษาที่สูง กระแสการกลับสู่ธรรมชาติเพื่อแสวงหาทางเลือกการรักษาจากพืชสมุนไพรจึงได้รับความสนใจมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Dervendzi, 1992; Petrovska, 2012; Thomson, 1978) ไม่เพียงเป็นความหวังใหม่ด้านสุขภาพ แต่ยังสะท้อนถึงความพยายามในการบูรณาการภูมิปัญญาดั้งเดิมเข้ากับวิทยาศาสตร์สมัยใหม่ พืชสมุนไพรนับเป็นองค์ประกอบสำคัญของการแพทย์แผนโบราณที่มีการสืบทอดองค์ความรู้และการใช้ประโยชน์มาตั้งแต่สมัยโบราณ ในหลายภูมิภาคทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย เนื่องจากหาได้ง่ายในท้องถิ่น มีต้นทุนต่ำ และมีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพและรักษาโรคต่าง ๆ ปัจจุบันสมุนไพรได้รับความสนใจเพื่อใช้เป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาใหม่ โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบกับยาเคมีสังเคราะห์ซึ่งมักมีผลข้างเคียง (Abdallah *et al.*, 2023; Elendu, 2024)

อย่างไรก็ดี การประยุกต์ใช้สมุนไพรในการรักษาโรคมะเร็งยังคงมีข้อจำกัด โดยเฉพาะในด้านกลไกการออกฤทธิ์ ความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง และความปลอดภัยต่อเซลล์ปกติ ซึ่งยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมอย่างเป็นระบบ

ปัจจุบันโรคมะเร็งยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขระดับโลก โดยองค์การอนามัยโลก (WHO) รายงานว่าในปี พ.ศ. 2565 มีผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่กว่า 20 ล้านคนทั่วโลก และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (Bray *et al.*, 2024) จากการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อมและพฤติกรรมการดำเนินชีวิต สำหรับประเทศไทย มะเร็งลำไส้และมะเร็งท่อน้ำดีเป็นชนิดของมะเร็งที่มีอุบัติการณ์

สูงและแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยมีมะเร็งลำไส้สัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคและปัจจัยทางพันธุกรรม (Dekker *et al.*, 2019) ส่วนมะเร็งท่อน้ำดีพบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย มีความเชื่อมโยงกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ และการบริโภคอาหารหมักดองที่ปนเปื้อนสารก่อมะเร็ง (Banales *et al.*, 2020; Sripa & Pairojkul, 2008) แม้การรักษาในปัจจุบัน เช่น เคมีบำบัดและรังสีรักษา จะช่วยยืดอายุผู้ป่วยได้บางส่วน แต่การดื้อยาและผลข้างเคียงจากการรักษา ยังคงเป็นอุปสรรคสำคัญต่อการควบคุมโรคมะเร็งในระยะยาว ดังนั้น ความพยายามในการค้นหาสารออกฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูง จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง และมีความปลอดภัยจึงเป็นเรื่องเร่งด่วน

สาบเสือ (*Chromolaena odorata*) หรือที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อ “siam weed” เป็นไม้พุ่มที่เติบโตเร็วและแพร่กระจายได้ดี พบได้ในเขตร้อน เช่น ประเทศไทยและเวียดนาม (Akinmutimi & A, 2006; King & Robinson, 1970) ในทางการแพทย์แผนโบราณส่วนที่นิยมใช้ของสาบเสือคือ ใบ โดยใช้ในรูปแบบตำสาดหรือสกัดน้ำ เพื่อนำมาใช้ห้ามเลือด รักษาบาดแผล แผลไฟไหม้ และการติดเชื้อที่ผิวหนัง ส่วนของ ราก และ ดอก แม้มีการใช้บ้างในบางภูมิภาค แต่มีการรายงานน้อยกว่า (Olawale *et al.*, 2021) ในทางเภสัชวิทยา ใบของสาบเสือก็มีส่วนที่มีการศึกษามากที่สุด โดยมีการสกัดด้วยตัวทำละลายหลายชนิด เช่น เมทานอล เอทานอล และ น้ำ ซึ่งพบว่าใบมีองค์ประกอบออกฤทธิ์สำคัญจำนวนมาก ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (เช่น kaempferide, sinensetin, scutellarein) และ กรดฟีนอลิก (เช่น protocatechuic acid, ferulic acid) (Olawale *et al.*, 2021) พืชชนิดนี้แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น มีฤทธิ์สมานแผล (Ling *et al.*, 2007; M. N. Vaisakh &

Pandey, 2012; Raina *et al.*, 2008) ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Irobi, 1992; Suksamrarn *et al.*, 2004) ด้านการอักเสบ (Hanh *et al.*, 2011; Subramoniam *et al.*, 2012; Villegas *et al.*, 2001) เสริมภูมิคุ้มกัน (Taleb-Contini *et al.*, 2006) และต้านมะเร็ง เช่น มะเร็งปากมดลูก และ มะเร็งเต้านม (Harun *et al.*, 2012; Kouamé *et al.*, 2013; Nanasombat & Teckchuen, 2009)

นํ้านมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในทางการแพทย์แผนโบราณ โดยเฉพาะในแถบเอเชียและแอฟริกา ส่วนที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ส่วนเหนือดิน ได้แก่ ใบและลำต้น เพื่อรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคหอบหืด การติดเชื้อทางเดินหายใจ ความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร โรคผิวหนัง และ บาดแผลซึ่งมักเตรียมในรูปของน้ำต้ม น้ำคั้น หรือพอกเฉพาะที่ ยางจากต้นถูกนำมาใช้รักษาแผลและโรคตา ส่วนรากนิยมใช้ในรูปแบบต้มดื่มหรือบดใช้ภายนอก เพื่อบำรุงหญิงหลังคลอด (Kumar *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2014) จากเอกสารวิชาการในฐานข้อมูลระดับโลกพบว่า พืชชนิดนี้มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่หลากหลาย ส่วนที่มีการศึกษามากที่สุดคือใบและทั้งต้น ซึ่งพบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ (เช่น quercitrin, rutin, afzelin), tannins, triterpenoids, polyphenols, phytosterols, gallic acid, kaempferol และ protocatechuic acid (Kumar *et al.*, 2010) ซึ่งเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของพืชชนิดนี้ เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Kumari & Pandey, 2017; Rajeh *et al.*, 2010) ต้านอนุมูลอิสระ (Asha *et al.*, 2016; Basma *et al.*, 2011) ลดการอักเสบ (Chen *et al.*, 2015; Lanhers *et al.*, 1991; Das *et al.*, 2010; Vázquez *et al.*, 1999) ด้านเชื้อมาลาเรีย (Liu *et al.*, 2007) และ ต้านมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งตับ มะเร็งผิวหนัง และ มะเร็งปอด (Sharma *et al.*, 2014; Sidambaram *et al.*, 2011; Vijaya *et al.*, 1995)

ถึงแม้จะมีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดของพืชทั้งสองชนิดนี้อย่างแพร่หลายแต่ข้อมูลเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้และมะเร็งท่อน้ำดียังมีจำกัด การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากใบสาบเสือและนํ้านมราชสีห์ในเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco-2) และเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (KKU-213A) โดยเปรียบเทียบกับเซลล์เยื่อบุช่องปากปกติ (NOK-SI) เพื่อประเมินความเป็นพิษจำเพาะ (selective toxicity) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อการพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมการรักษาที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งชนิดใหม่ในอนาคต

การทดลอง

1. การเตรียมสารสกัด

ใบของสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) และนํ้านมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*) ถูกนำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อตัวอย่างแห้งสนิทแล้วจึงนำมาบดให้ละเอียด และใช้สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำหรือตัวทำละลายเอทานอล ในขั้นตอนการสกัด ชั่งผงแห้งของพืชแต่ละชนิดจำนวน 200 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร และ 80% เอทานอล 1 ลิตร แล้วกวนผสมบนเครื่องกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer) เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเพื่อแยกสารละลายออกจากกากพืช นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (Buchi Rotavapor® R-134, Büchi Labortechnik AG, Switzerland) และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องแช่แข็งแห้ง (Heto Drywinner Freeze Dryer, Heto Lab Equipment, Denmark) เพื่อให้ได้สารสกัดในรูปแบบผงแห้งแล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำมาใช้ในการทดลอง ก่อนทำการทดลองนำผงแห้งของสารสกัดมาชั่งแล้วเตรียมเป็นสารละลายตั้งต้น (stock solution) ความเข้มข้น 200 mg/mL โดยละลายในน้ำกลั่น ซึ่งในขั้นตอนนี้จะได้สารสกัด 4 ชนิด ได้แก่ Ch.o-W (สาบเสือสกัดด้วยน้ำ), Ch.o-EtOH (สาบเสือสกัดด้วยเอทานอล), Eu.h-W (นํ้านมราชสีห์สกัดด้วยน้ำ) และ Eu.h-EtOH (นํ้านมราชสีห์สกัดด้วยเอทานอล)

2. การวัดปริมาณสารฟีนอลิกรวม

ในการประเมินปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (Total Phenolic Content, TPC) นำสารสกัดใบสาบเสือและนํ้านมราชสีห์มาละลายในเอทานอล 70% และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยมีการเขย่าเป็นระยะ จากนั้นทำการวัดปริมาณฟีนอลรวมในไมโครเพลต 96 หลุม ตามวิธีที่มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ (Ainsworth & Gillespie, 2007) โดยมีการปรับเปลี่ยนบางส่วนตามความเหมาะสม วิธีการโดยย่อในแต่ละปฏิกิริยาจะเติมสารสกัด 20 µL ตามด้วยสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu (Loba Chemie Pvt. Ltd., India) 100 µL และสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต (Na₂CO₃) 80 µL จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้เอทานอล 70% เป็นกลุ่มควบคุม (blank) และใช้สารมาตรฐาน gallic acid (Merck Co., Germany) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน เมื่อบ่มครบเวลา นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลต (Spark Multimode Microplate Reader, Tecan, Switzerland) และ

รายงานผลในหน่วย มิลลิกรัมเทียบเท่า gallic acid ต่อน้ำหนักแห้งสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/g DW)

3. การเพาะเลี้ยงเซลล์

เซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco-2) และเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (KKU-213A) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ชนิดกลูโคสสูง ที่เติม 10% Fetal bovine serum (FBS) และ 1% penicillin-streptomycin ตามสภาวะมาตรฐานในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ และควบคุมความชื้นที่ประมาณ 90-95% โดยจะทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 2-3 วัน ส่วนเซลล์ Normal Oral Keratinocytes-Spontaneously Immortalized (NOK-SI) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ Keratinocyte ชนิดปราศจากซีรัม (Keratinocyte-SFM) ในสภาวะมาตรฐานเช่นเดียวกัน

4. การทดสอบการอยู่รอดของเซลล์ด้วยวิธี MTT

การทดสอบการอยู่รอดของเซลล์ (cell viability assay) ด้วยเทคนิค MTT อาศัยหลักการที่ว่า เซลล์ที่มีชีวิตจะมีเอนไซม์ในไมโทคอนเดรียที่ทำงานได้ปกติซึ่งสามารถรีดิวซ์สาร MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) ซึ่งเป็นเกลือเตตระโซเลียมสีเหลืองให้เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ฟอร์มazan (formazan) สีม่วง ปริมาณผลิตภัณฑ์ฟอร์มazan ที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอด วิธีการทดลอง หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เจริญเติบโตได้ประมาณ 70-80% ของพื้นที่ผิวภาชนะเพาะเลี้ยงแล้ว จะทำให้เซลล์หลุดด้วยวิธีย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsinization) แล้วนับเซลล์ด้วยเครื่อง hemocytometer และทำการย้ายเซลล์ไปเพาะเลี้ยงในจาน 96 หลุม ที่มีความหนาแน่นเซลล์ประมาณ 3×10^3 เซลล์/หลุม หลังจากปล่อยให้เซลล์ยึดเกาะเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเติมสารสกัด Ch.o-W, Ch.o-EtOH, Eu.h-W และ Eu.h-EtOH ที่ความเข้มข้น 0.625, 1.25, และ 2.5 mg/mL และบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กลุ่มควบคุมผลลบคือเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารปราศจากสารสกัดและยา กลุ่มควบคุมผลบวก คือเซลล์ที่บ่มกับยาเคมีบำบัด 5-fluorouracil (Sigma-Aldrich, MO, USA) ความเข้มข้น 25 μ M (~3.25 μ g/mL) เมื่อบ่มครบเวลาแล้ว จะทำการเติมสาร MTT ลงในแต่ละหลุมที่ความเข้มข้น 0.5 mg/mL แล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ต่ออีก 2 ชั่วโมง แล้วทำการดูดเอาสาร MTT ส่วนที่เหลือทิ้ง ละลาย

ผลิตภัณฑ์ฟอร์มazanด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 100 μ L/หลุม แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลต ค่าร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ (% cell viability) คำนวณจากสูตร

$$\% \text{ Cell viability} = \left(\frac{A_{\text{Test}}}{A_{\text{Control}}} \right) \times 100$$

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD) จากการทดลองอิสระ 3 ครั้ง (three independent biological replicates) โดยแต่ละการทดลองประกอบด้วยการทำซ้ำทางเทคนิคอย่างน้อย 3 ซ้ำ (technical replicates) การเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกรวม (TPC) วิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองปัจจัย (two-way ANOVA) ตามด้วยการเปรียบเทียบรายคู่ที่ปรับค่า P ด้วยวิธี Sidák ส่วนข้อมูลการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ วิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) แยกตามชนิดสารสกัดและความเข้มข้น ตามด้วย Dunnett's multiple comparisons test โดยเปรียบเทียบเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดกับเซลล์ปกติ NOK-SI ที่ความเข้มข้นเดียวกัน กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

ผลการทดลองและอภิปรายผล

1. ปริมาณสารฟีนอลิกรวม

จากการวิเคราะห์สารสกัดทั้งสี่ชนิด พบว่ามีปริมาณสารฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสารสกัด Ch.o-EtOH มีปริมาณสูงที่สุด (7.18 ± 0.39 mg GAE/g DW) รองลงมาคือ Eu.h-EtOH (4.16 ± 0.20), Ch.o-W (3.16 ± 0.43), และ Eu.h-W (1.95 ± 0.09) ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 1 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในอดีตที่รายงานว่าสารสกัดด้วยเอทานอลสามารถดึงสารฟีนอลิกออกมาได้มากกว่าการสกัดด้วยน้ำ (Ainsworth & Gillespie, 2007; Benjamaa *et al.*, 2024) สารฟีนอลิกจัดเป็นกลุ่มหลักของสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นองค์ประกอบสำคัญซึ่งกำหนดคุณสมบัติทางชีวเคมีของสารกลุ่มนี้ เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และต้านมะเร็ง (Abdallah *et al.*, 2023; Sharma *et al.*, 2014) ความแตกต่างของปริมาณสารฟีนอลิกนี้น่าจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความแรงของฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารสกัดแต่ละชนิดในภายหลัง

Table 1 Total phenolic content (TPC)

Extracts	TPC (mg GAE/g DW)
Ch.o-W	3.16 ± 0.43 ^b
Ch.o-EtOH	7.18 ± 0.39 ^d
Eu.h-W	1.95 ± 0.09 ^a
Eu.h-EtOH	4.16 ± 0.20 ^c

Values are expressed as mean ± SD from three independent biological replicates. Different superscript letters (a–d) indicate statistically significant differences among extracts according to Šídák-adjusted pairwise comparisons following two-way ANOVA ($P < 0.05$).

2.ฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารสกัดใบสาบเสือและใบน่านมราชสีห์ด้วยวิธี MTT ผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบสาบเสือทั้งชนิดที่สกัดด้วยน้ำ (Ch.o-W) และสกัดด้วยเอทานอล (Ch.o-EtOH) มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco-2) และมะเร็งท่อน้ำดี (KKU-213A) แบบขึ้นกับระดับความเข้มข้น (dose-dependent) และมีฤทธิ์ในเซลล์มะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติ (NOK-SI) ดังแสดงใน Figure 1 และ Table 2 โดย Ch.o-EtOH มีฤทธิ์มากกว่า Ch.o-W และสอดคล้องกับปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Table 1) เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต่อเซลล์ NOK-SI ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของเซลล์ปกติพบว่า Ch.o-W มีฤทธิ์ยับยั้ง NOK-SI เซลล์น้อยมาก ในขณะที่ Ch.o-EtOH แม้จะมีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งสูงแต่ก็ยับยั้งเซลล์ปกติในระดับที่สูงขึ้นด้วยเช่นกัน กล่าวคือ Ch.o-W มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งมากกว่า Ch.o-EtOH ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าสารสกัดใบสาบเสือมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งในระดับที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดสารสกัดและเซลล์เป้าหมาย (Kouamé *et al.*, 2013; Yusuf *et al.*, 2023)

Table 2 Half-maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of *Chromolaena odorata* extracts

Cell lines	IC_{50} (mg/mL)	
	Ch.o-W	Ch.o-EtOH
NOK-SI	> 2.5	1.03 ± 0.01
Caco-2	1.23 ± 0.06	0.58 ± 0.22
KKU-213A	1.42 ± 0.07	0.65 ± 0.09

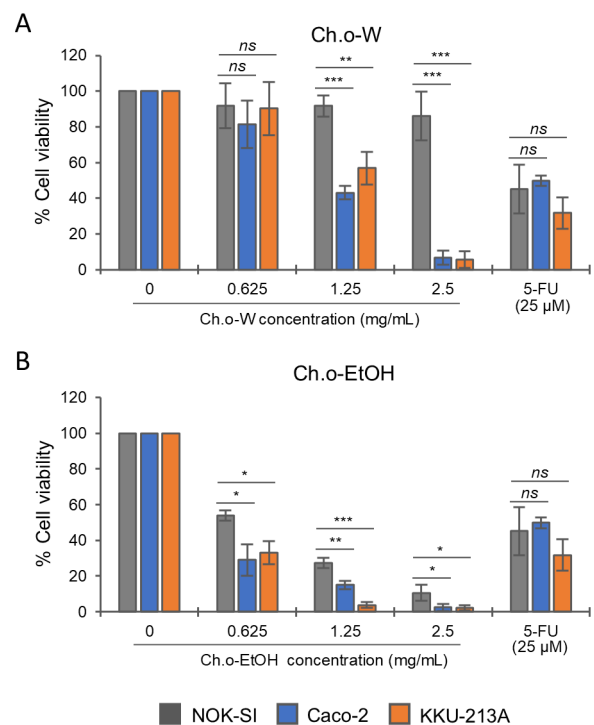


Figure 1 Effect of *Chromolaena odorata* extracts on cell viability. (A) Cells treated with Ch.o-W. (B) Cells treated with Ch.o-EtOH. Significant differences between each cancer cell line and the normal cell line (NOK-SI) at the same extract concentration were determined by one-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparisons test. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; ns, not significant.

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดใบน่านมราชสีห์พบว่าทั้งส่วนที่สกัดด้วยน้ำ (Eu.h-W) และสกัดด้วยเอทานอล (Eu.h-EtOH) มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดแบบ dose-dependent และสารสกัดทั้งสองส่วนมีฤทธิ์ใกล้เคียงกันในการยับยั้งเซลล์ Caco-2 และ KKU-213A อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาฤทธิ์ต่อเซลล์ NOK-SI พบว่า Eu.h-EtOH มีฤทธิ์ต่ำหมายถึงมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งมากกว่า Eu.h-W ดังแสดงใน Figure 2 และ Table 3

Table 3 Half-maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of *Euphorbia hirta* extracts

Cell lines	IC_{50} (mg/mL)	
	Eu.h-W	Eu.h-EtOH
NOK-SI	2.36 $\pm$ 0.61	> 2.5
Caco-2	1.51 $\pm$ 0.12	1.37 $\pm$ 0.01
KKU-213A	1.19 $\pm$ 0.10	1.36 $\pm$ 0.01

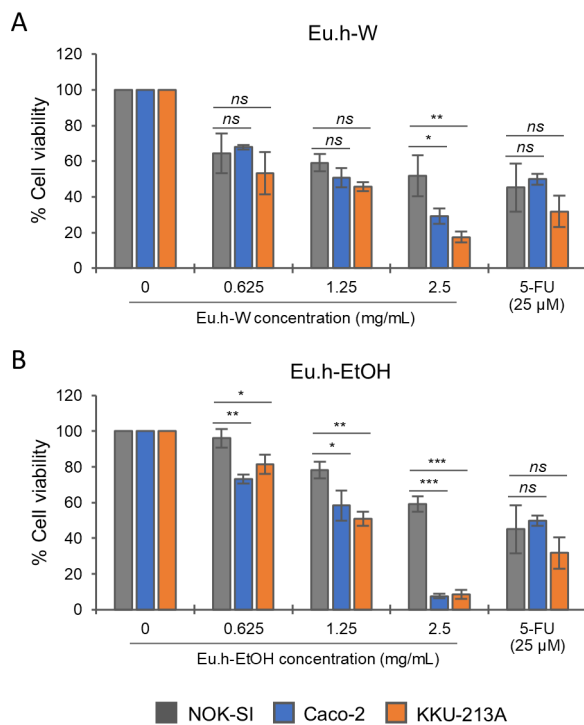


Figure 2 Effect of *Euphorbia hirta* extracts on cell viability. (A) Cells treated with Eu.h-W. (B) Cells treated with Eu.h-EtOH. Significant differences between each cancer cell line and the normal cell line (NOK-SI) at the same extract concentration were determined by one-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparisons test. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; ns, not significant.

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบสาบเสือและใบนํานมราชสีห์ทั้งในรูปแบบสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งแบบ dose-dependent โดยการลดลงของควมมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ (NOK-SI) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหลายระดับความเข้มข้น (Figure 1 และ Figure 2) นอกจากนี้ Ch.o-EtOH ให้ค่า IC_{50} ต่ำกว่า Ch.o-W ซึ่งบ่งชี้ถึงฤทธิ์ยับยั้ง

เซลล์มะเร็งที่สูงกว่า ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการวัดปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่พบว่า Ch.o-EtOH มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงกว่า Ch.o-W ประมาณ 2.27 เท่า (Table 1) อย่างไรก็ตาม Ch.o-W มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งสูงกว่าเห็นได้จากมีฤทธิ์ต่อเซลล์ปกติ (NOK-SI) ในระดับต่ำ ผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า สารสกัดใบสาบเสือโดยใช้ ethyl acetate สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม ชนิด MCF-7 และ T47D แบบ dose-dependent โดยมีค่า IC_{50} 218.78 μ g/mL และ 307.61 μ g/mL สำหรับ เซลล์ MCF-7 และ T47D ตามลำดับ และมีฤทธิ์ต่อเซลล์ Vero ซึ่งไม่ใช่เซลล์มะเร็งต่ำกว่า (Yusuf *et al.*, 2023) ในการศึกษาครั้งนี้เราพบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบสาบเสือในมะเร็งลำไส้และมะเร็งท่อน้ำดีสูงกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้ค่อนข้างมาก (อยู่ในช่วง 0.58 $\pm$ 0.22 - 1.42 $\pm$ 0.07 mg/mL) แต่อาจจะเปรียบเทียบโดยตรงไม่ได้เนื่องจากใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันและศึกษาในเซลล์ต่างชนิดกัน

ในทำนองเดียวกัน สารสกัดใบนํานมราชสีห์ทั้ง Eu.h-W และ Eu.h-EtOH แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดในลักษณะ dose-dependent และมีฤทธิ์ต่อเซลล์ปกติน้อยกว่าเซลล์มะเร็ง โดย Eu.h-EtOH มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ NOK-SI ต่ำกว่า Eu.h-W ซึ่งบ่งชี้ถึงค่าความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งที่ดีกว่า ผลการศึกษานี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาในมะเร็งชนิดอื่นเช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งตับ มะเร็งผิวหนัง และ มะเร็งปอด (Sharma *et al.*, 2014; Sidambaram *et al.*, 2011; Vijaya *et al.*, 1995) ทั้งในแง่ฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งและมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งในระดับที่ดี โดยมีผลกระทบต่อเซลล์ปกติน้อยกว่าหรืออยู่ในระดับที่ยอมรับได้ที่น่าสนใจคือ พืชทั้งสองชนิด ได้แก่ *C. odorata* และ *E. hirta* มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีบางชนิดที่ เหมือนกัน หรืออยู่ใน กลุ่มสารชนิดเดียวกัน ซึ่งอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ทั้งสองพืชแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งในลักษณะคล้ายกัน โดยเฉพาะในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ และ กรดฟีนอลิก เช่น protocatechuic acid ซึ่งพบในทั้งสองชนิด และสารอื่นในกลุ่มเดียวกัน เช่น kaempferol, rutin และ quercitrin ที่มีรายงานใน *E. hirta* สารเหล่านี้มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน ได้แก่ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง การชักนำให้เซลล์มะเร็งเกิด apoptosis รวมถึง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการอักเสบ ดังนั้น ความคล้ายคลึงกันขององค์ประกอบทางเคมีบางส่วนในพืชทั้งสองชนิดนี้ อาจช่วยอธิบายผลการทดลองที่พบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารสกัดได้บางส่วน (Kumar *et al.*, 2010; Olawale *et al.*, 2021)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

กล่าวโดยสรุป ผลการศึกษานี้ร่วมกับรายงานการศึกษาในอดีต ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดจากใบสาบเสือและใบน่านมราชสีห์ ในการพัฒนาต่อยอดเป็นสารต้านมะเร็งทางเลือก อย่างไรก็ตาม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้ ควรมีการปรับปรุงและเพิ่มความหลากหลายของกระบวนการสกัด โดยทดลองใช้ตัวทำละลายหลายชนิด ศึกษาในเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติที่หลากหลาย รวมทั้งการวิเคราะห์เพื่อแยกและระบุสารออกฤทธิ์สำคัญที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด และศึกษาประสิทธิภาพและความปลอดภัยในสัตว์ทดลองและในทางคลินิกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ (หลักสูตรชีวเคมี) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้สนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์ต่าง ๆ ในงานวิจัยในครั้งนี้ และ นางสาวพรประภาวีร์ ดันติเมตตา ได้รับทุนบัณฑิตศึกษาสงขลานครินทร์ (PSU_PHD2565-002)

เอกสารอ้างอิง

- Abdallah, E. M., Alhatlani, B. Y., de Paula Menezes, R., & Martins, C. H. G. (2023). Back to nature: Medicinal plants as promising sources for antibacterial drugs in the post-antibiotic era. *Plants*, 12(17), Article 3077. <https://doi.org/10.3390/plants12173077>
- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875–877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.365>
- Akinmutimi, A. H., & A, A. (2006). The effect of graded levels of dietary inclusion of siam weed (*Chromolaena odorata*) leaf meal in grower rabbits diet in a tropical environment. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5, 707–711.
- Asha, S., Thirunavukkarasu, P., Mani, V. M., & Sadiq, A. M. (2016). Antioxidant activity of *Euphorbia hirta* Linn leaves extracts. *European Journal of Medicinal Plants*, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2016/24185>
- Banales, J. M., Marin, J. J. G., Lamarca, A., Rodrigues, P. M., Khan, S. A., Roberts, L. R., Cardinale, V., Carpino, G., Andersen, J. B., Braconi, C., Calvisi, D. F., Perugorria, M. J., Fabris, L., Boulter, L., Macias, R. I. R., Gaudio, E., Alvaro, D., Gradilone, S. A., Strazzabosco, M., . . . Gores, G. J. (2020). Cholangiocarcinoma 2020: The next horizon in mechanisms and management. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(9), 557–588. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0310-z>
- Basma, A. A., Zakaria, Z., Latha, L. Y., & Sasidharan, S. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(5), 386–390. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60113-X](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60113-X)
- Benjamaa, R., Elbouny, H., Errati, H., Moujanni, A., Kaushik, N., Gupta, R., Ennibi, O., Nasser, B., Choi, E. H., Kaushik, N. K., & Essamadi, A. (2024). Comparative evaluation of antioxidant activity, total phenolic content, anti-inflammatory, and antibacterial potential of *Euphorbia*-derived functional products. *Frontiers in Pharmacology*, 15, Article 1345340. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1345340>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Chen, J., Er, H. M., Mohamed, S. M., & Chen, Y. S. (2015). In vitro anti-inflammatory activity of fractionated *Euphorbia hirta* aqueous extract on rabbit synovial fibroblasts. *Biomedical Journal*, 38(4), 301–306. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2014.07.004>
- Das, P., Mekap, S., Pani, S., Sethi, R., & Nayak, P. (2010). Pharmacological evaluation of anti-inflammatory activity of *Euphorbia hirta* against carrageenan induced paw edema in rats. *Der Pharmacia Lettre*, 2(2), 151–154.
- Dekker, E., Tanis, P. J., Vleugels, J. L. A., Kasi, P. M., & Wallace, M. B. (2019). Colorectal cancer. *The Lancet*, 394(10207), 1467–1480. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)

- Dervendzi, V. (1992). *Contemporary treatment with medicinal plants*. Tabernacle.
- Elendu, C. (2024). The evolution of ancient healing practices: From shamanism to Hippocratic medicine: A review. *Medicine*, 103(28), Article e39005. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000039005>
- Hanh, T. T., Hang, D. T., Van Minh, C., & Dat, N. T. (2011). Anti-inflammatory effects of fatty acids isolated from *Chromolaena odorata*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(10), 760–763. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60187-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60187-6)
- Harun, F. B., Syed Sahil Jamalullail, S. M., Yin, K. B., Othman, Z., Tilwari, A., & Balaram, P. (2012). Autophagic cell death is induced by acetone and ethyl acetate extracts from *Eupatorium odoratum* in vitro: Effects on MCF-7 and vero cell lines. *The Scientific World Journal*, 2012, Article 439479. <https://doi.org/10.1100/2012/439479>
- Irobi, O. N. (1992). Activities of *Chromolaena odorata* (compositae) leaf extract against *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus faecalis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 37(1), 81–83. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(92\)90044-6](https://doi.org/10.1016/0378-8741(92)90044-6)
- King, R., & Robinson, H. (1970). Studies in the Eupatorieae (Compositae). XXIX. The genus *Chromolaena*. *Phytologia*, 20(3).
- Kouamé, P. B., Jacques, C., Bedi, G., Silvestre, V., Loquet, D., Barillé-Nion, S., Robins, R. J., & Tea, I. (2013). Phytochemicals isolated from leaves of *Chromolaena odorata*: Impact on viability and clonogenicity of cancer cell lines. *Phytotherapy Research*, 27(6), 835–840. <https://doi.org/10.1002/ptr.4795>
- Kumar, S., Malhotra, R., & Kumar, D. (2010). *Euphorbia hirta*: Its chemistry, traditional and medicinal uses, and pharmacological activities. *Pharmacognosy Reviews*, 4, 58–61.
- Kumari, I., & Pandey, R. (2017). Antibacterial activity of *Euphorbia hirta* L. In *Applications of biotechnology for sustainable development*.
- Lanthers, M. C., Fleurentin, J., Dorfman, P., Mortier, F., & Pelt, J. M. (1991). Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Euphorbia hirta*. *Planta Medica*, 57(3), 225–231. <https://doi.org/10.1055/s-2006-960074>
- Ling, S. K., Pissar, M. M., & Man, S. (2007). Platelet-activating factor (PAF) receptor binding antagonist activity of the methanol extracts and isolated flavonoids from *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(6), 1150–1152. <https://doi.org/10.1248/bpb.30.1150>
- Liu, Y., Murakami, N., Ji, H., Abreu, P., & Zhang, S. (2007). Antimalarial flavonol glycosides from *Euphorbia hirta*. *Pharmaceutical Biology*, 45(4), 278–281. <https://doi.org/10.1080/13880200701213038>
- Nanasombat, S., & Teckchuen, N. (2009). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3, 443–449.
- Olawale, F., Olofinson, K., & Iwaloye, O. (2021). Biological activities of *Chromolaena odorata*: A mechanistic review. *South African Journal of Botany*, 144, 44–57. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.08.031>
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1–5. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
- Rajeh, M. A., Zuraini, Z., Sasidharan, S., Latha, L. Y., & Amutha, S. (2010). Assessment of *Euphorbia hirta* L. leaf, flower, stem and root extracts for their antibacterial and antifungal activity and brine shrimp lethality. *Molecules*, 15(9), 6008–6018. <https://doi.org/10.3390/molecules15096008>
- Raina, R., Prawez, S., Verma, P., & Pankaj, N. K. (2008). Medicinal plants and their role in wound healing. *VetScan*, 3.
- Sharma, N., Samarakoon, K. W., Gyawali, R., Park, Y. H., Lee, S. J., Oh, S. J., Lee, T. H., & Jeong, D. K. (2014). Evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of *Euphorbia hirta* ethanolic extract. *Molecules*, 19(9), 14567–14581. <https://doi.org/10.3390/molecules190914567>
- Sidambaram, R. R., Dinesh, M., & Jayalakshmi, E. (2011). An in vitro study of cytotoxic activity of *Euphorbia*

- hirta* on Hep2 cells of human epithelioma of larynx. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 101–103.
- Sripa, B., & Pairojkul, C. (2008). Cholangiocarcinoma: Lessons from Thailand. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24(3), 349–356. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e3282bf38c>
- Subramoniam, A., Asha, V. V., Nair, S. A., Sasidharan, S. P., Sureshkumar, P. K., Rajendran, K. N., Karunakaran, D., & Ramalingam, K. (2012). Chlorophyll revisited: Anti-inflammatory activities of chlorophyll a and inhibition of expression of TNF- α gene by the same. *Inflammation*, 35(3), 959–966. <https://doi.org/10.1007/s10753-011-9399-0>
- Suksamrarn, A., Chotipong, A., Suavansri, T., Boongird, S., Timsuksai, P., Vimuttipong, S., & Chuaynugul, A. (2004). Antimycobacterial activity and cytotoxicity of flavonoids from the flowers of *Chromolaena odorata*. *Archives of Pharmacal Research*, 27, 507–511. <https://doi.org/10.1007/BF02980112>
- Taleb-Contini, S. H., Kanashiro, A., Kabeya, L. M., Polizello, A. C., Lucisano-Valim, Y. M., & Oliveira, D. C. (2006). Immunomodulatory effects of methoxylated flavonoids from two *Chromolaena* species: Structure-activity relationships. *Phytotherapy Research*, 20(7), 573–575. <https://doi.org/10.1002/ptr.1914>
- Thomson, W. A. R. (1978). *Medicines from the earth: A guide to healing plants*. McGraw-Hill.
- Vaisakh, M. N., & Pandey, A. (2012). The invasive weed with healing properties: A review on *Chromolaena odorata*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1), 80–83.
- Vázquez, M. M., Apan, T. R., Lazcano, M. E., & Bye, R. (1999). Anti-inflammatory active compounds from the n-hexane extract of *Euphorbia hirta*. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 43, 103–105.
- Vijaya, K., Ananthan, S., & Nalini, R. (1995). Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella* spp.—A cell culture study. *Journal of Ethnopharmacology*, 49(2), 115–118. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(95\)01311-Q](https://doi.org/10.1016/0378-8741(95)01311-Q)
- Villegas, L. F., Marçalo, A., Martin, J., Fernández, I. D., Maldonado, H., Vaisberg, A. J., & Hammond, G. B. (2001). (+)-epi-Alpha-bisabolol is the wound-healing principle of *Peperomia galioides*: Investigation of the in vivo wound-healing activity of related terpenoids. *Journal of Natural Products*, 64(10), 1357–1359. <https://doi.org/10.1021/np010260t>
- Yusuf, H., Novia, H., & Fahriani, M. (2023). Cytotoxic activity of ethyl acetate extract of *Chromolaena odorata* on MCF7 and T47D breast cancer cells. *Narra J*, 3(3), Article e326. <https://doi.org/10.52225/narra.v3i3.326>