

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่
ของสารสกัดหยาบฮว่านจ็อก
Cytotoxicity Activity of *Pseuderanthemum palatiferum*
Crude Extracts against Breast and Colon Cancer Cells

ศศมล ผาสุก*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

ประเสริฐ มีรัตน์

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Sasamol Phasuk*

Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,
Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

Prasert Meeratana

Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University,
Long-Hard Bangsaen Road, Saensook, Muang, Chonburi 20131

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณและตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีในใบและลำต้นฮว่านจ็อก รวมถึงศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อก โดยนำใบฮว่านจ็อกแห้งและลำต้นฮว่านจ็อกแห้งมาสกัดด้วยเอทานอลโดยการแช่อยู่ (maceration) ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง นำสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกที่ได้ไปหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และตรวจหาสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีน (steroid-terpenes) แอลคาลอยด์ (alkaloid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ด้วยเทคนิค TLC fingerprint นำสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกไปศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมโดยใช้ MCF-7 เซลล์ไลน์ และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่โดยใช้ Caco2 เซลล์ไลน์ ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยเทคนิค MTT assay ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกที่สกัดด้วยเอทานอลมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 11.91 และ 2.32 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.80 และ 1.64 mg of gallic acid/1 g of sample ปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 1.85 และ 1.68 mg of tannic acid/1 g of

sample และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 40.52 และ 40.71 mg of rutin/1 g of sample ตามลำดับ ตรวจพบสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์และฟลาโวนอยด์ แต่ตรวจไม่พบแอลคาลอยด์ในใบและลำต้นฮว่านจ็อก โดยสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7 เซลล์ไลน์) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 593 $\mu\text{g/ml}$ ส่วนสารสกัดหยาบลำต้นฮว่านจ็อกไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมมีค่า IC_{50} มากกว่า 5,000 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อก มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Caco2 เซลล์ไลน์) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 455 และ 620 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

คำสำคัญ : สารสกัดหยาบฮว่านจ็อก; ความเป็นพิษต่อเซลล์; มะเร็งเต้านม; มะเร็งลำไส้ใหญ่

Abstract

This study aimed to (1) analyze and identify the chemical compounds in leaves and stems of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk., and (2) study cytotoxicity of crude extract of *P. palatiferum* leaves and stems in breast and colon cell lines. These leaves and stems were dried and macerated with ethanol, and the ethanolic extract was evaporated under a reduced pressure condition and then freeze dried. The *P. palatiferum* crude extracts were analyzed for total phenolic, tannin and flavonoid content using UV-Vis spectrophotometry. Moreover, steroid-terpene, alkaloid and flavonoid were identified by TLC fingerprints. The MTT assay was used to test cytotoxicity of *P. palatiferum* in the MCF-7 and Caco2 cell lines, which were used as a representative line of breast and colon cell lines, respectively. The results were as follow: (1) The total phenolic contents of crude extracts of *P. palatiferum* leaves and stems were 1.80 and 1.64 mg of gallic acid/1 g of sample, respectively whereas their total tannin contents were 1.85 and 1.68 mg of tannic acid/1 g of sample, respectively. Moreover, the total flavonoid contents of crude extracts of *P. palatiferum* leaves and stems were 40.52 and 40.71 mg of rutin/1 g of sample, respectively. The results of TLC fingerprint analyses showed steroid-terpene and flavonoid but no alkaloid. (2) The crude extract of *P. palatiferum* leaves was toxic to MCF-7 cells with an IC_{50} value of 593 $\mu\text{g/ml}$, but the crude extract of its stems was not toxic to these cells with an IC_{50} value of more than 5,000 $\mu\text{g/ml}$. Both leaf and stem extracts were toxic to Caco2 cells with IC_{50} values of 455 and 620 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Keywords: *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk.; cytotoxicity; breast cancer; colon cancer

1. บทนำ

ในปัจจุบันนี้โรคร้ายไข้เจ็บที่เบียดเบียนสุขภาพและชีวิตมนุษย์เป็นอันดับต้น ๆ คือ โรคมะเร็ง ซึ่งอาจ

พบที่อวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ตับ ปอด เต้านม ลำไส้ใหญ่ โรคมะเร็งเกิดจากเซลล์มีการแบ่งตัวผิดปกติ โดยที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมได้เนื่องจากปัจจัย

เนื้องอกที่ส่งเสริมจะทำให้เกิดเป็นเนื้องอก (tumor) ซึ่งอาจเป็นเนื้องอกธรรมดาที่ไม่ใช่มะเร็ง (benign tumor) สามารถตัดออกได้ ไม่กลับเป็นใหม่ และที่สำคัญไม่สามารถแพร่กระจาย ส่วนเนื้องอกอีกชนิดหนึ่งคือมะเร็ง เกิดจากเซลล์ที่แบ่งตัวแล้วทำลายเนื้อเยื่ออวัยวะใกล้เคียงที่สำคัญ เซลล์สามารถแพร่กระจายไปตามกระแสเลือดและน้ำเหลืองไปสู่อวัยวะอื่น ๆ มะเร็งเป็นโรคร้ายที่อาจเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต แต่สามารถรักษาได้ผลดีถ้าตรวจพบและได้รับการรักษาแต่เนิ่น ๆ

โรคมะเร็งที่เป็นและตรวจพบในระยะแรก ๆ แพทย์จะรักษาโดยวิธีต่าง ๆ เช่น ฉายแสง เคมีบำบัด หรือผ่าตัด และการรักษาที่เป็นทางเลือกอีกทางหนึ่ง คือ การกินยาสมุนไพร ซึ่งปัจจุบันมีการนำพืชสมุนไพรของไทยมาใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็งกันมาก เช่น ฮว่านจื๊อ [*Pseuderanthemum palatiferrum* (Nees) Radlk.] โดยผู้ป่วยมะเร็งนำไปสดมากินมื้อละ 7 ใบ ก่อนอาหาร หรือเอาส่วนของกิ่ง ลำต้น ราก ใบ และโคนต้นที่สดหรือแห้งมาต้มกับน้ำกินรักษามะเร็งลำไส้ นอกจากนี้ยังมีการนำไปรักษามะเร็งตับ ไต ปอด กระดูกสันหลัง ช่องปากและลำคอ มดลูก เต้านม ลำไส้ กระเพาะอาหาร และต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น หลังจากรับประทานแล้วพบว่าผู้ป่วยมะเร็งมีอาการดีขึ้นและมีชีวิตยืนยาวขึ้นจากที่แพทย์ได้บอกไว้ [1]

จากการศึกษาวิจัยพบว่าฮว่านจื๊อมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ เช่น พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบสดของฮว่านจื๊อมีฤทธิ์ลดความดันโลหิต ทำให้หัวใจเต้นช้าและมีฤทธิ์คลายหลอดเลือดได้ และมีความปลอดภัยต่อหนูขาวในการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังเรื้อรัง [2,3] มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด [4] มีฤทธิ์ลดการต้านอักเสบ [5] และจากภูมิปัญญาด้านพืชสมุนไพรที่นำฮว่านจื๊อมารับประทานเป็นยารักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งเต้านม ซึ่งจากการ

ศึกษาพบว่าโรคมะเร็งที่เป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งของประชากรทั้งหญิงและชายทั่วโลก คือ มะเร็งปอด รองลงมา คือ มะเร็งลำไส้และมะเร็งเต้านม [6] ในประเทศไทยพบโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ในผู้ชายมากเป็นอันดับ 3 รองจากมะเร็งตับและมะเร็งปอด พบมากเป็นอันดับ 5 ในผู้หญิงรองจากมะเร็งปากมดลูก มะเร็งเต้านม มะเร็งตับและมะเร็งปอด [7] ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาวิจัยความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของใบและลำต้นของฮว่านจื๊อ โดยใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์ ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจื๊อ และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ รวมทั้งตรวจสอบสารสำคัญบางชนิด ได้แก่ สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ในใบและลำต้นฮว่านจื๊อ ซึ่งสารเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ผลการวิจัยจะเป็นประโยชน์ในทางเภสัชวิทยา ในการที่จะนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเป็นยารักษาโรคมะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่ต่อไป ซึ่งจะช่วยส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าพืชสมุนไพรที่เป็นภูมิปัญญาอันทรงคุณค่าของไทยให้คงอยู่สืบไป และจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้ายาจากต่างประเทศ ช่วยส่งเสริมเศรษฐกิจของชาติและทำให้ยามีราคาถูกลง ประเทศสามารถพึ่งพาตนเองด้านสาธารณสุขได้

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสกัดสารจากใบและลำต้นฮว่านจื๊อด้วยตัวทำละลายเอทานอล

นำใบและลำต้นฮว่านจื๊อแห้งอย่างละ 15 กิโลกรัม แยกกันใส่คนละภาชนะ เติมน้ำเอทานอลลงไป 20 ลิตร ให้ท่วมพืช ปิดฝาภาชนะให้สนิทแช่ทิ้งไว้ 5 วัน

นำมากรองแยกกากออก และแช่ซ้ำอีก 5 วัน กรองแยกกากออก รวมสารสกัดเข้าด้วยกัน นำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็งจนแห้งได้สารสกัดหยาบใบและลำต้นฮวานจ็อก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2 การหาปริมาณสารสำคัญในสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮวานจ็อก

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด [8,9]

2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อก

2.2.1.1 การทำกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (standard curve) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0, 4, 8, 12, 16, 20 ppm ตามลำดับ โดยละลายในเอทานอล 20 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร โดยแยกแต่ละหลอดทดลอง จากนั้นนำทุกหลอดทดลองมาเติมสารละลายฟอลิน 1 มิลลิลิตร และ 0.8 มิลลิลิตร ของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (vortex) ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.2.1.2 นำสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกที่ต้องการหาปริมาณสารฟีนอลิกมา 0.2 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 2 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง (0.1 mg/ml) เติมสารละลายฟอลิน 1 มิลลิลิตร และ 0.8 มิลลิลิตร ของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (vortex) ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานกรด

แกลลิก ก็จะได้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีหน่วยเป็น ppm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ

2.2.1.1-2.2.1.2 แต่เปลี่ยนจากสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกเป็นสารสกัดหยาบลำต้นฮวานจ็อก

2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อก

2.2.3.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยชั่งสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อก 10 มิลลิกรัม ละลายด้วย 99.9 % เอทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

2.2.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยชั่งสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก 10 มิลลิกรัม ละลายด้วย 99.9 % เอทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำมาเตรียมความเข้มข้น 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.3.3 การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด : (1) เตรียมสารละลายตัวอย่าง/เตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยปิเปตน้ำกลั่น 8,400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ปิเปตสารตัวอย่าง/สารมาตรฐาน 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติม Folin-Ciocalteu reagent 500 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที เติม 20 % Na_2CO_3 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และ (2) การเตรียม blank โดยปิเปตน้ำกลั่น 8,500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม Folin-Ciocalteu reagent 500 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที เติม 20 % Na_2CO_3 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ

2.2.3.1-2.2.3.3 แต่เปลี่ยนจากสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อก เป็นสารสกัดหยาบลำต้นฮว่านจ็อก

2.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อก

2.2.5.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยชั่งสารละลายมาตรฐานรูทีน 10 มิลลิกรัม ละลายด้วย 80 % เอทานอลปริมาตร 5 มิลลิตร นำมาเตรียมความเข้มข้น 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

2.2.5.2 การเตรียม blank โดยปิเปตน้ำกลั่น 5 มิลลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิตร ที่เวลา 0 นาที เติม 0.3 มิลลิตร ของ 5 % NaNO_2 ที่เวลา 5 นาที เติม 0.3 มิลลิตร ของ 10 % AlCl_3 ที่เวลา 6 นาที เติม 2 มิลลิตร ของ 1 M NaOH ปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

2.2.5.3 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยปิเปตสารตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิตร เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) ที่เวลา 0 นาที เติม 0.3 มิลลิตร ของ 5 % NaNO_2 ที่เวลา 5 นาที เติม 0.3 มิลลิตร ของ 10 % AlCl_3 ที่เวลา 6 นาที เติม 2 มิลลิตร ของ 1 M NaOH ปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.6 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2.5.1-2.2.5.3 แต่เปลี่ยนจากสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกเป็นสารสกัดหยาบลำต้นฮว่านจ็อก

2.3 การตรวจหาสาระสำคัญในใบและลำต้นฮว่านจ็อกด้วยเทคนิค TLC fingerprint

การวิเคราะห์หากลุ่มสารหลักด้วย TLC fingerprints [10-12]

2.3.1 การหาสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ใน

ใบฮว่านจ็อก โดยชั่งผงใบฮว่านจ็อก 5 กรัม เติมหกเซน 25 มิลลิตร เขย่า 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ซะล้าง (rinse) กระดาษกรองด้วยเฮกเซน 5 มิลลิตร นำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง นำสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานไปพัฒนานบนแผ่น TLC พันด้วยน้ำยาวานิลลิน-กรดซัลฟูริก ตรวจสอบแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 แต่เปลี่ยนจากใบเป็นลำต้นฮว่านจ็อก

2.3.3 การหาสารแอลคาลอยด์ในใบฮว่านจ็อก โดยชั่งผงใบฮว่านจ็อก 5 กรัม เติม 0.1 N กรดซัลฟูริก 100 มิลลิตร เขย่า 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ซะล้าง (rinse) กระดาษกรองด้วย 0.1 N กรดซัลฟูริก 10 มิลลิตร นำสารสกัดที่ได้ทำให้เป็นด่าง โดยเติม 5 % แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จนได้ pH 8-9 สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง ครั้งละ 40 มิลลิตร ในกรวยแยก รวมสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มมากำจัดน้ำที่ปนอยู่ โดยกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง แล้วนำสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานไปพัฒนานบนแผ่น TLC พันด้วยน้ำยาตราเจนดอร์ฟ ตรวจสอบแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3.4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3.3 แต่เปลี่ยนจากใบเป็นลำต้นฮว่านจ็อก

2.3.5 การหาสารฟลาโวนอยด์ ในใบฮว่านจ็อก โดยชั่งผงใบฮว่านจ็อก 10 กรัม เติมเมทานอล 40

มิลลิเมตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทั้งให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ได้ไปประเหด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิเมตร ได้สารละลายตัวอย่าง นำสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐานไปพัฒนาบนแผ่น TLC พ่นด้วยน้ำยาเนเจอร์ลโปรดักส์-โพลีเอธิลีนไกลคอล นำแผ่น TLC ไปตรวจดูแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3.6 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3.5 แต่เปลี่ยนจากใบเป็นลำต้นฮวานร็อก

2.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่ใช้วิธี MTT assay [13]

2.4.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมของสารสกัดหยาบใบฮวานร็อก

2.4.1.1 การเตรียมสารตัวอย่าง นำสารสกัดหยาบใบฮวานร็อกมาชั่ง นำไปละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ทำเป็นสต็อกเข้มข้น 20 mg/ml แล้วเจือจางเป็น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56 และ 0.78 µg/ml

2.4.1.2 การเลี้ยงเซลล์ใช้เซลล์ MCF-7 cell line (human breast carcinoma ATCC Cat. No. HTB-22) นำไปเลี้ยงใน minimum essential medium (MEM) ที่มี 10 % fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 0.1 mM non-essential amino acid, 1.0 mM sodium pyruvate, 100 unit/ml penicillin และ 100 µg/ml streptomycin ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 %

2.4.1.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT assay นำเซลล์มาเพาะเลี้ยง

ในถาดหลุมเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate) มีความหนาแน่น 3,000 เซลล์ต่อหลุม และบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 48 ชั่วโมง ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ถูกเติมลงไปเซลล์และบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 24 ชั่วโมง นำสารตัวอย่างออกจากเซลล์เพาะเลี้ยงและนำเซลล์ไปบ่มซ้ำในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปทดสอบด้วยวิธี MTT assay ดังนี้ (1) ปิเปต MTT 50 µl ใน PBS 5 mg/ml เติมนลงในแต่ละหลุม และนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (2) เติมนสารละลายที่ได้จากการละลายฟอร์มาซานด้วย DMSO 200 µl และซอร์เรนเซนไกลซีนบัฟเฟอร์ pH 10.5 และ (3) หาค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเตอร์ และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SoftMax และหาค่า IC₅₀ เพื่อหาความเป็นพิษต่อเซลล์ของแต่ละตัวอย่าง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.4.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ

2.4.1.1-2.4.1.3 แต่เปลี่ยนจากใบเป็นลำต้นฮวานร็อก

2.4.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบใบฮวานร็อก

2.4.3.1 การเตรียมสารตัวอย่าง นำสารสกัดหยาบใบฮวานร็อกมาชั่ง นำไปละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ทำเป็นสต็อกเข้มข้น 20 mg/ml แล้วเจือจางเป็น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.56 µg/ml

2.4.3.2 การเลี้ยงเซลล์ใช้เซลล์ Caco2 cell line (human Caucasian colon adenocarcinoma ATCC Cat. No. HTB-37) นำไปเลี้ยงใน minimum essential medium (MEM) ที่มี 10 % fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 0.1 mM non-essential amino acid, 1.0 IU/ml bovine insulin, 100 unit/ml penicillin และ 100 µg/ml streptomycin ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ

37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 %

2.4.3.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT assay นำเซลล์มาเพาะเลี้ยงในถาดหลุมเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate) มีความหนาแน่น 3,000 เซลล์ต่อหลุม และบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 48 ชั่วโมง ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ถูกเติมลงไปในเซลล์และบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 24 ชั่วโมง นำสารตัวอย่างออกจากเซลล์เพาะเลี้ยงและนำเซลล์ไปบ่มซ้ำในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปทดสอบด้วยวิธี MTT assay ดังนี้ (1) ปิเปต MTT 50 μ l ใน PBS 5 mg/ml เติมลงในแต่ละหลุม และนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (2) เติมสารละลายที่ได้จากการละลายฟอร์มาซาน ด้วย DMSO 200 μ l และซอร์เบนท์โซลชันบัฟเฟอร์ pH 10.5 และ (3) หาค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องมือโครเพลทรีดเดอร์ และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SoftMax และหาค่า IC_{50} เพื่อหาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.4.4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ

2.4.3.1-2.4.3.3 แต่เปลี่ยนจากใบเป็นลำต้นฮวานจ็อก

3. ผลการวิจัย

3.1 การสกัดสารจากใบและลำต้นฮวานจ็อกด้วยเอทานอล

ได้ผลดังรูปที่ 1 พบว่าสารสกัดใบฮวานจ็อกได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 11.91 สารสกัดลำต้นฮวานจ็อกได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 2.32



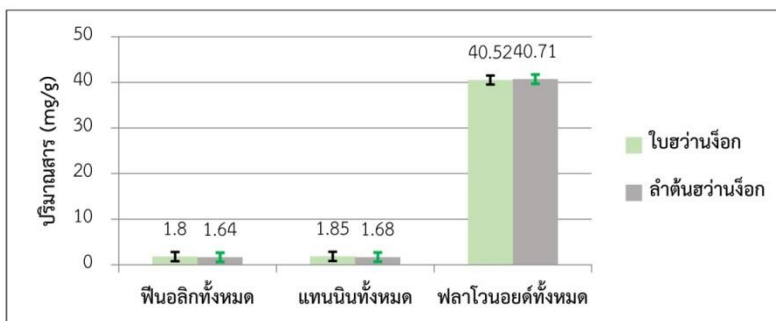
รูปที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮวานจ็อก

3.2 ผลการหาปริมาณกลุ่มสารสำคัญ

3.2.1 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮวานจ็อก ได้ผลดังรูปที่ 2

จากรูปที่ 2 พบว่าสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮวานจ็อกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.80 และ 1.64 mg of gallic acid/1 g of sample มีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 1.85 และ 1.68 mg of tannic acid/1 g of sample และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 40.52 และ 40.71 mg of rutin acid/1 g of sample ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแทนนินทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮวานจ็อก พบว่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)



รูปที่ 2 การเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮวานจ็อก

3.3 ผลการตรวจหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC fingerprint

3.3.1 การทำ TLC fingerprint สารสกัดใบฮวานง็อก

3.3.1.1 สารกลุ่มสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ เฮกเซน-เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 10:2 ผลการทดสอบสามารถแยกสารได้ 7 สาร มีค่า R_f เท่ากับ 0.11, 0.21, 0.39, 0.48, 0.55, 0.60 และ 0.81 มีสารหนึ่งที่มีค่า R_f เท่ากับสารละลายมาตรฐาน R_f เท่ากับ 0.48

3.3.1.2 สารกลุ่มแอลคาลอยด์ ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ คลอโรฟอร์ม-เมทานอล-น้ำ อัตราส่วน 30:7:1 ผลการทดสอบพบว่าสารละลายมาตรฐานมีค่า R_f เท่ากับ 0.81 แต่ตรวจไม่พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ในใบฮวานง็อก

3.3.1.3 สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ เอทิลอะซิเตต-กรดฟอร์มิก-กรดอะซิติก-น้ำ อัตราส่วน 10:1:1:2 ผลการทดสอบสามารถแยกได้ 6 สาร มีค่า R_f เท่ากับ 0.11, 0.32,

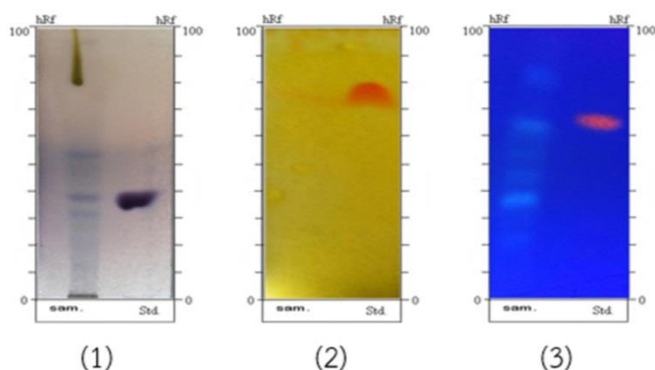
0.39, 0.49, 0.61 และ 0.81 มีสารหนึ่งที่มีค่า R_f เท่ากับสารละลายมาตรฐาน R_f เท่ากับ 0.61

ผลการทำ TLC fingerprint ตรวจหาสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ เทียบกับสารมาตรฐานของใบฮวานง็อก แสดงดังรูปที่ 3

3.3.2 การทำ TLC fingerprint สารสกัดลำต้นฮวานง็อก

3.3.1.1 สารกลุ่มสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ เฮกเซน-เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 10:2 ผลการทดสอบสามารถแยกสารได้ 4 สาร มีค่า R_f เท่ากับ 0.30, 0.40, 0.63 และ 0.72 ตามลำดับ มีสารหนึ่งที่มีค่า R_f เท่ากับสารละลายมาตรฐาน R_f เท่ากับ 0.40

3.3.1.2 สารกลุ่มแอลคาลอยด์ ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ คลอโรฟอร์ม-เมทานอล-น้ำ อัตราส่วน 30:7:1 ผลการทดสอบพบว่าสารละลายมาตรฐานมีค่า R_f เท่ากับ 0.63 แต่ตรวจไม่พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์

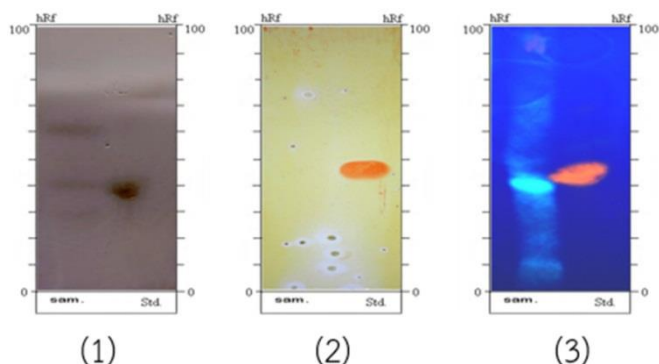


รูปที่ 3 TLC fingerprint ของสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ (1) แอลคาลอยด์ (2) และฟลาโวนอยด์ (3) ในใบฮวานง็อก

3.3.1.3 สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ เอทิลอะซิเตต-กรดฟอร์มิก-กรดอะซิติก-น้ำ อัตราส่วน 10:1:1:2 ผลการทดสอบสามารถแยกได้ถึง 5 สาร มีค่า R_f เท่ากับ 0.08, 0.19, 0.29, 0.38 และ 0.94 มีสารหนึ่งที่มีค่า R_f เท่ากับ

สารละลายมาตรฐาน R_f เท่ากับ 0.38

ผลการทำ TLC fingerprint ตรวจหาสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ เทียบกับสารมาตรฐานของลำต้นฮวานง็อก แสดงดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 TLC fingerprint ของสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ (1) แอลคาลอยด์ (2) และฟลาโวนอยด์ (3) ของลำต้นฮวานง็อก

3.4 ผลทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

3.4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบไอบฮวานง็อก ได้ผลดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมของสารสกัดหยาบไอบฮวานง็อก

ความเข้มข้น (µg/ml)	ร้อยละการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง (เฉลี่ย)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (เฉลี่ย)	IC ₅₀ ±SD (µg/ml)
1,000	41	4	593±12
500	53	5	
250	73	4	
125	83	7	
62.5	91	11	
31.25	96	0.3	
15.63	103	1	
7.81	101	4	

จากตารางที่ 3 พบว่าสารสกัดหยาบไอบฮวานง็อกที่ระดับความเข้มข้น 7.81-1,000 µg/ml มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7 cell lines) โดยมีค่า IC₅₀±SD เท่ากับ 593±12 µg/ml

จากตารางที่ 4 พบว่าสารสกัดหยาบไอบฮวานง็อกที่ระดับความเข้มข้น 7.81-1,000 µg/ml มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (CaCo2 cell lines) โดยมีค่า IC₅₀±SD เท่ากับ 445±45 µg/ml

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบไอบฮวานง็อก

ความเข้มข้น (µg/ml)	ร้อยละการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง (เฉลี่ย)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (เฉลี่ย)	IC ₅₀ ±SD (µg/ml)
500	40	5	445±45
250	82	4	
125	87	7	
62.5	92	11	
31.25	96	0.3	
15.63	97	1	
7.81	100	4	
500	40	5	

3.4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบลำต้นฮวานง็อก ได้ผลดังตารางที่ 3 และ 4

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมของสารสกัดหยาบลำต้นฮวานจ็อก

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ร้อยละการอยู่รอด ของเซลล์ มะเร็ง (เฉลี่ย)	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (เฉลี่ย)	$\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$ ($\mu\text{g/ml}$)
5,000	71	16	>5,000
2,500	81	7	
1,250	88	12	
625	83	10	
312.5	85	1	
156.25	95	2	
78.13	96	4	
39.06	91	4	

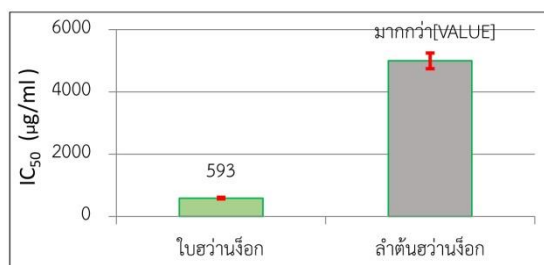
ตารางที่ 4 ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบลำต้นฮวานจ็อก

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ร้อยละการอยู่รอด ของเซลล์ มะเร็ง (เฉลี่ย)	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (เฉลี่ย)	$\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$ ($\mu\text{g/ml}$)
1,000	20	16	620 ± 94
500	74	7	
250	89	12	
125	93	10	
62.5	98	1	
31.25	93	2	
15.63	98	4	
7.81	97	4	

จากตารางที่ 3 พบว่าสารสกัดหยาบลำต้นฮวานจ็อกที่ระดับความเข้มข้น 39.06-5,000 $\mu\text{g/ml}$ ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7 cell lines) โดยมีค่า $\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$ มากกว่า 5,000 $\mu\text{g/ml}$

จากตารางที่ 4 พบว่าสารสกัดหยาบลำต้นฮวานจ็อกที่ระดับความเข้มข้น 7.81-1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Caco2 cell lines) โดยมีค่า $\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$ เท่ากับ 620 ± 94 $\mu\text{g/ml}$

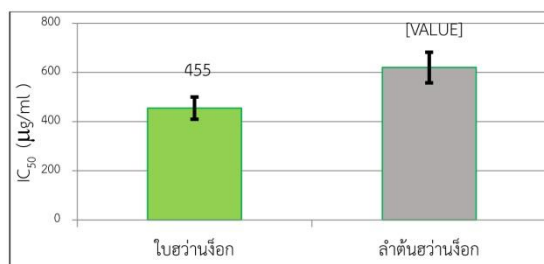
ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมของสารสกัดหยาบและลำต้นฮวานจ็อก แสดงดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมของสารสกัดหยาบและลำต้นฮวานจ็อก

จากรูปที่ 5 พบว่าสารสกัดหยาบฮวานจ็อกมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม ($\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$ เท่ากับ 593 ± 12 $\mu\text{g/ml}$) มากกว่าสารสกัดหยาบลำต้นฮวานจ็อก ($\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$ มากกว่า 5000 $\mu\text{g/ml}$)

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบและลำต้นฮวานจ็อก แสดงดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบและลำต้นฮวานจ็อก

จากรูปที่ 6 พบว่าสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ($IC_{50} \pm SD$ เท่ากับ 455 ± 45 $\mu\text{g/ml}$) มากกว่าสารสกัดหยาบลำต้นฮว่านจ็อก ($IC_{50} \pm SD$ เท่ากับ 620 ± 94 $\mu\text{g/ml}$)

4. วิจัยรณ

จากการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.80 mg of Gallic acid/1 g of sample มีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 1.85 mg of tannic acid/1 g of sample และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 40.52 mg of rutin acid/1 g of sample ตามลำดับ ส่วนลำต้นฮว่านจ็อกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.64 mg of gallic acid/1 g of sample มีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 1.68 mg of tannic acid/1 g of sample และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 40.71 mg of rutin acid/1 g of sample จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกที่สกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่มาก และยังมีสารประกอบฟีนอลิกและแทนนินเป็นองค์ประกอบ เมื่อนำสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกมาตรวจหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC fingerprint ตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่าในสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกที่สกัดด้วยเอทานอล แต่มากกว่าครึ่งหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเอทานอล คือ ฟลาโวนอยด์ [14] และจากการศึกษาวิจัยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบฮว่านจ็อกที่สำคัญ คือ ฟลาโวนอยด์และคาร์โตนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเซลล์มะเร็ง [15]

จากการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกที่สกัดด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 7.81-1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 593 $\mu\text{g/ml}$ และเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 455 $\mu\text{g/ml}$ และสารสกัดหยาบลำต้นฮว่านจ็อกที่สกัดด้วยเอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 620 $\mu\text{g/ml}$ การที่สารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่ อาจเนื่องจากในสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกมีสารฟลาโวนอยด์ อยู่ในปริมาณมากและยังมีสารประกอบฟีนอลิกและสารแทนนินเป็นองค์ประกอบ เพราะจากการศึกษาวิจัยพบว่าสารฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกจะทำลายหรือฆ่าเซลล์มะเร็งได้ จากการศึกษพบว่าสารพอลิฟีนอลในสารสกัดจากมะม่วงสามารถทำให้เซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ตาย [16] พบว่าสารเจอราโนน (geraniin) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดมะขามป้อม มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งเต้านมได้ นอกจากนี้ยังพบว่าคอนเดนซ์แทนนิน ซึ่งเป็นสารประกอบพอลิฟีนอลในสมุนไพรวัดรีฟลามิฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมได้และสารเคอร์คิวมิน (curcumin) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งในขมิ้นชัน สามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ [17] จากผลการศึกษาวิจัยพบว่าปริมาณสารสกัดหยาบใบมากกว่าลำต้นฮว่านจ็อกประมาณ 5 เท่า และมีปริมาณสารฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์แตกต่างกันไม่มาก แต่จากการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบใบฮว่านจ็อกมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมประมาณ 10 เท่า ของสารสกัดหยาบลำต้นฮว่านจ็อก สารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ไม่แตกต่างกันมาก อาจเนื่องจากในสารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่าน

จ็อกที่สกัดได้ นอกจากจะมีสารฟีนอลิก แทนนินและ ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่ทำการศึกษแล้ว ยังมีสารอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในใบและลำต้น ฮว่านจ็อกที่ไม่ได้ทำการศึกษาทั้งที่เป็นสารเมแทบอลิท์ ปฐมภูมิและเมแทบอลิท์ทุติยภูมิซึ่งเกิดจาก กระบวนการชีวสังเคราะห์ของพืช ซึ่งในส่วนต่าง ๆ ของพืชจะมีปริมาณแตกต่างกันไป [18] จึงทำให้ได้สาร สกัดหยาบแตกต่างกันไป ส่วนการที่สารสกัดหยาบจาก ใบและลำต้นฮว่านจ็อกเป็นพืชต่อเซลล์มะเร็งมาน้อย แตกต่างกันนั้น อาจเนื่องจากกลไกการเป็นพืชต่อ เซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด แตกต่างกัน เนื่องจากเป็นมะเร็ง ที่เกิดกับอวัยวะคนละชนิดกัน การเจริญเติบโตของ เซลล์ที่ผิดปกติจึงอาจแตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรมี การศึกษากลไกการเป็นพิษของสารสกัดหยาบใบและ ลำต้นฮว่านจ็อกในเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด รวมทั้งมี การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ปกติของ มนุษย์ ซึ่งในการศึกษาวิจัยนี้ไม่ได้ทำการศึกษา เนื่องจากหาเซลล์ปกติมาทำการศึกษไม่ได้ และควร เพิ่มเซลล์ที่ใช้ในการศึกษามากกว่าหนึ่งชนิด เพื่อไม่เกิด การสรุปผลไม่ได้เกิดจาก cell specific แต่มีผลกับ เซลล์ไลน์อื่น ซึ่งในการศึกษาวิจัยนี้ไม่ได้ทำการศึกษา เพราะมุ่งเป้าไปที่เซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็ง ลำไส้ใหญ่เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบ ลำต้นฮว่านจ็อกไม่เป็นพืชต่อเซลล์มะเร็งเต้านม ซึ่ง สอดคล้องกับภูมิปัญญาในเรื่องพืชสมุนไพรที่ผู้ป่วย โรคมะเร็งนิยมนำใบฮว่านจอกมารับประทานเพื่อรักษา โรคมะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่แล้วมีอาการดีขึ้น มากกว่านำส่วนลำต้นมารับประทาน [19]

5. สรุป

สารสกัดหยาบใบและลำต้นฮว่านจ็อกจึงมีความ เป็นไปได้ที่จะนำไปพัฒนาและศึกษาวิจัยต่อยอด เกี่ยวกับกลไกการเป็นพืชต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและ

มะเร็งลำไส้ใหญ่ และเซลล์มะเร็งอื่น ๆ เพื่อเป็น ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นยารักษามะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่และมะเร็งชนิดอื่น ๆ ได้ ซึ่งจะช่วย พัฒนายาจากพืชสมุนไพรในการรักษาโรคมะเร็งแทน ยาที่นำเข้าจากต่างประเทศเพื่อลดค่าใช้จ่ายต่อไป

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรม ราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบคุณ เป็นอย่างสูง

7. เอกสารอ้างอิง

- [1] สมุนไพรฮว่านจ็อก, แหล่งที่มา : <http://www1.tv5.co.th/service/mod/heritage/nation/tour/hoanngoc.htm>, 28 กรกฎาคม 2557.
- [2] ปริรัตน์ คนสูง, 2554, การศึกษาฤทธิ์ต่อหัวใจ และหลอดเลือดและความเป็นพิษของสารสกัด ด้วยน้ำจากใบ ของ *Pseuderanthemum platiferum* ในหนูขาว, ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- [3] Khonsung, P., Panthong, A., Chiranthanut N. and Intahphuak, S., 2011, Hypotensive effect of the water extract of the leaves of *Pseuderanthemum palatiferum*, J. Nat. Med. 65: 551-558.
- [4] Padeea, P., Nualkaewa, S., Talubmookb, C. and Sakuljaitrong, S., 2010, Hypoglycemic effect of a leaf extract of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, J. Ethnopharmacol. 132: 491-496.

- [5] Khumpook, T., Chomdej, S., Saenphet, S., Amornlerdpison, D. and Saenphet, K., 2013, Anti-inflammatory activity of ethanol extract from the leaves of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk., Chiang Mai J. Sci. 40: 321-331.
- [6] ไม่เลือกเพศและวัย!! มะเร็งลำไส้ใหญ่, แหล่งที่มา : <http://www.hiso.or.th/hiso/tonkit/tonkits71.php>, 10 มีนาคม 2557.
- [7] โรคมะเร็งลำไส้ใหญ่, แหล่งที่มา : <http://www.tsco.or.th/index.php/component/article/46-2011-02-23-17-03-08/57-2011-02-23-17-14-26>, 10 มีนาคม 2557.
- [8] Lister, E. and Wilson, P., 2001, Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity, Crop Research Institute, Lincoln, New Zealand.
- [9] Lingard, K, Singleton, V.L., 1977, Total phenal analysis: Automation and comparison with manual method, Am. J. Enol. Vitic. 28: 49-55.
- [10] Bolliger, H.R., Brenner, M., Ganshirt, H., Manglod, H.K., Seiler, H., Stahl, E. and Walldi, D., 1965, Thin-layer Chromatograph: A Laboratory Handbook, Academic Press, New York.
- [11] Merck, E., 1980, Dyeing reagents for thin-layer and paper chromatography, E. Merck, Darmstadt.
- [12] Wagner, H. and Bladt, S., 1996, Plant drug analysis, Springer-Verlag, Berlin.
- [13] Plumb, J.A., Milroy, R. and Kaye, S.B., 1989, Effects of the pH dependence of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide-formazan absorption on chemosensitivity determined by a novel tetrazolium based assay, Cancer Res. 49: 4435-4440.
- [14] Sittisart, P. and Chitsomboon, B., 2014, Intracellular ROS Scavenging Activity and Downregulation of Inflammatory Mediators in RAW264.7 Macrophage by Fresh Leaf Extracts of *Pseuderanthemum palatiferum*, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume, Article ID 309095, 11 p.
- [15] Chausakul, W. and Sribudsaracum, A., 2009, Hoan Ngoc, Med. Plant Newslett. 25(3): 3-6.
- [16] ฮว่านจื๊อกับมะเร็ง, แหล่งที่มา : <http://www.herbal.muasma.com/page12>, 20 กรกฎาคม 2557.
- [17] ฮว่านจื๊อกับการวิจัย, แหล่งที่มา : <http://www.budmgt.com/herbs/hbor/lymphoma-care-withherbs/html>, 20 กรกฎาคม 2557.
- [18] วิลาศ พุ่มพิมล, 2555, เคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, ดวงกลมพับลิชชิง, กรุงเทพฯ.
- [19] สมุนไพรมหัศจรรย์ฮว่านจื๊อก, แหล่งที่มา : <http://www.hoannngoc.th.com/index.php?lay=show&ac=article&id=539330795>, 30 กรกฎาคม 2557.