

สารสกัดสมุนไพรไทยต่อการต้านมะเร็งและต้านอนุมูลอิสระ

Anticancer and Antioxidant Activities of Thai Herbal Plant Extracts

อรุณ จันทรคำ¹* และกาญจนา วงศ์กระจ่าง²

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

²สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์

*Email: aroon.j@ubru.ac.th

บทคัดย่อ

จากการนำพืชสมุนไพร 10 ส่วน ซึ่งประกอบด้วยดอกแสมง ดอกและใบก้นเกรา ใบกระโดน ใบชะอม ใบต้ว ใบย่านาง ลูกจันทน์ เปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวงและฐานดอกหุ้มเมล็ดบัวหลวง ทำการสกัดด้วยเมทานอล (98%) นำสารสกัดทั้งหมดทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิดที่แตกต่างกัน (มะเร็งปอด มะเร็งในช่องปาก และมะเร็งเต้านม) พบสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวงแสดงฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็งปอดดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดจากฐานดอกหุ้มเมล็ดบัวหลวง และลูกจันทน์ ตามลำดับ สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็งในช่องปาก พบ สารสกัดจากใบต้วแสดงฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็งดีที่สุด ตามมาด้วยสารสกัดจากลูกจันทน์และสารสกัดจากดอกแสมง ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านม พบว่า เฉพาะสารสกัดจากลูกจันทน์และดอกแสมงเท่านั้นที่แสดงฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็งชนิดนี้ และ ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช พบ สารสกัดจากฐานดอกหุ้มเมล็ดบัวหลวงแสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (EC_{50} เท่ากับ 3.55 $\mu\text{g/ml}$) และ ยังพบว่าค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีถึงสองเท่า (EC_{50} เท่ากับ 8.90 $\mu\text{g/ml}$) รองลงมา คือ สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวงพบว่ามีค่าการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (EC_{50} เท่ากับ 9.00 $\mu\text{g/ml}$) ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานวิตามินซี สารสกัดจากใบกระโดนก็เช่นเดียวกัน คือ แสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยค่า EC_{50} เท่ากับ 9.60 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดอื่นๆ ที่แสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระในลำดับถัดมา ได้แก่ สารสกัดจากใบต้ว ดอกแสมง ใบย่านาง และดอกก้นเกรา ตามลำดับ จากผลการวิจัยดังกล่าว ทำให้ทราบข้อมูลที่น่าสนใจเนื่องจากสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดสมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่างๆ เช่น เครื่องสำอาง อาหารเสริม หรือ ยารักษาโรคที่ดีต่อไปในอนาคตได้

คำสำคัญ: สารสกัดสมุนไพรไทย ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

There are ten parts of herbal plants which are flowers of *Dipterocarpus intricatus* (Sabang), flowers and leaves of *Fragraea fragrans* (Kankrao), leaves of *Careya sphaerica* (Kradone), leaves of *Acacia pennata* (Cha-om), leaves of *Cratoxylum formosum* (Teaw), leaves of

Tiliacora triandra (Yanang), fruits of *Dracaena loureiri* (Janpha), seed coats and torus of *Nelumbo nucifera* (Bualuang). They were extracted by methanol (98%) and subjected to their cytotoxicity on three different cancer cell lines (lung cancer, KB cancer and breast cancer). The extracted from seed coats of *N. nucifera* showed the best anti-lung cancer cells, followed by torus extract of *N. nucifera*, and fruit extract of *D. loureiri* respectively. The extracted from leaves of *C. formosum* showed the highest anti-KB cancer cells, followed by fruit extract of *D. loureiri* and flowers of *D. intricatus* extract, respectively. Only extracts from *D. loureiri* and *D. intricatus* were against breast cancer cells. The torus of *N. nucifera* extract showed the highest DPPH antioxidant activity with an EC_{50} value = 3.55 $\mu\text{g/ml}$, that has a two-fold higher value than standard (Vitamin C, EC_{50} = 8.90 $\mu\text{g/ml}$), followed by the seed coats extract of *N. nucifera* (EC_{50} = 9.00 $\mu\text{g/ml}$), and the leaves of *C. sphaerica* extract showed EC_{50} value = 9.60 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Some extracts showed antioxidant activity, such as *C. formosum*, *D. intricatus*, *T. triandra*, and *F. fragrans* extracts. The further research could be develop the herbal extracts to be healthy products, such as cosmetics, supplementary food and could be medicinal in the future.

Keywords: Thai Herbal extracts, Anti-cancer, Antioxidant activity

บทนำ

อนุมูลอิสระ คือ ตัวการที่ทำให้เกิดโรค เป็นตัวทำลายภูมิคุ้มกันและเซลล์ต่างๆ ทำให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกาย ซึ่งจะแสดงออกมาในรูปแบบของ ริ้วรอย แก่ก่อนวัย และโรคความเสื่อมของอวัยวะต่างๆ ที่รุนแรงมาก คือ การก่อตัวเป็นเนื้อร้าย หรือ เซลล์มะเร็งนั่นเอง การเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็ง เป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับหนึ่งของประเทศไทย แม้ปัจจุบันการรักษาด้วยการใช้ยาเคมีบำบัด เป็นการรักษาที่มีประสิทธิภาพสูง แต่ยังมีผู้ป่วยเป็นจำนวนมากได้รับผลข้างเคียงจากการใช้ยา และมีรายงานถึงการดื้อยา ซึ่งนับเป็นปัญหาสำคัญในการรักษาด้วยเคมีบำบัด ความพยายามในการนำสารสกัดจากสมุนไพรไทยมาใช้เพื่อยับยั้งเซลล์มะเร็ง และลดการเกิดการดื้อยา จึงเป็นอีกหนึ่งความหวังในการรักษาโรคมะเร็งด้วย เนื่องจากพืชสมุนไพรเป็นแหล่งธรรมชาติของสารเคมีอินทรีย์ และยังมีคุณสมบัติในการย่อยสลายทางชีวภาพ ทำให้ได้ผลผลิตที่ไม่เป็นพิษอีกด้วย ดังนั้น การค้นหานิตของสมุนไพรออกฤทธิ์และแหล่งของสมุนไพรที่ดี จึงมีบทบาทสำคัญในการคัดเลือกสมุนไพรเพื่อจะนำไปใช้ประโยชน์ได้ จังหวัดอุบลราชธานีเป็นแหล่งที่มีความอุดมสมบูรณ์ด้านพืชพรรณธรรมชาติ อีกทั้งยังเป็นแหล่งที่มีการใช้สมุนไพรกันอย่างแพร่หลายอีกด้วย จากรายงานการวิจัยของวงศ์สถิต ฉั่วสกุล และอำพล บุญเปล่ง (2547) ที่ทำการสำรวจสมุนไพรพื้นบ้านบริเวณจังหวัดอุบลราชธานี โดยสัมภาษณ์หมอพื้นบ้านเกี่ยวกับสมุนไพรที่ใช้ ชื่อพื้นเมือง ส่วนที่ใช้ทำยา รวมทั้งสรรพคุณและวิธีใช้ เก็บตัวอย่างสมุนไพรจัดทำเป็นตัวอย่างพืชแห้ง ตรวจเอกลักษณ์พืชด้วยรูปวิธาน และเปรียบเทียบตัวอย่างพืชที่พิพิธภัณฑ์พืช กรุงเทพฯ และหอพรรณไม้ รวมสมุนไพรได้ทั้งหมด 42 วงศ์ 99 ชนิด ซึ่งจำแนกเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ 74 ชนิด พืชใบเลี้ยงเดี่ยว 24 ชนิด

และเฟิร์น 1 ชนิด สมุนไพรจำนวน 15 ชนิด ใช้ในรูปยาตำหรับ และอีก 17 ชนิด ใช้ในรูปสมุนไพรเดี่ยว สมุนไพรบางชนิดที่นิยมใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยาแผนโบราณ ได้แก่

จันผา หรือจันทน์แดง (*Dracaena loureiri*) อยู่ในวงศ์ Dracaenaceae มีสรรพคุณแก้พิษไข้ ภายนอกและภายใน แก้อ่อนในกระหายน้ำ ทำให้หัวใจชุ่มชื้น แก้ไอ บำรุงหัวใจ แก้พิษฝีที่มีการอักเสบและปวดบวม รักษาเลือดออกตามไรฟัน บัญชียาจากสมุนไพรตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบแห่งชาติ (บัญชียาหลักแห่งชาติ. 2556 ออนไลน์) จัดให้จันผาเป็นยารักษาภูมิอาการทางระบบไหลเวียนโลหิต ในตำรับยาหอมเทพจิตรและตำรับยาหอมนวโกฐ และยาแก้ไข้ตำรับยาจันทน์ลีลา จากการศึกษาทางพิษวิทยาของจันผา พบ loureiriol, 5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxybenzyl)-4-chromanone, 4,4'-dihydroxy-2,6-dimethoxydihydrochalcone, 2,4'-dihydroxy-4,6-dimethoxydihydrochalcone, 4'-hydroxy-2,4,6-trimethoxydihydrochalcone, 4,6,4'-trihydroxy-2-methoxydihydrochalcone, 4,3',5'-trihydroxystilbene, 4,3'-dihydroxy-5'-methoxystilbene และ 4-hydroxy-3',5'-dimethoxystilbene (Likhitwitayawuid et al., 2002)

กันเกรา (*Fragraea fragrans*) จัดอยู่ในวงศ์ Loganiaceae สรรพคุณตำรายาไทย ใบ แก้ไข้ มาลาเรีย แก้หอบหืด บำรุงธาตุ และรักษาโรคผิวหนังพุพอง แก่น รสมันผัดขมิ้น บำรุงร่างกาย บำรุงธาตุ บำรุงไขมัน เป็นยาอายุวัฒนะ แก้ไข้จับสั่น ทืด ไอ แก่ริดสีดวง แก่ท้องมาน แก่ท้องเดิน มูกเลือด แก้พิษฝี กาก แก่เน่นหน้าอก บำรุงม้าม บำรุงโลหิต ขับลม แก่โลหิตพิการ แก่ปวดแสบปวดร้อน ตามผิวหนังและร่างกาย เป็นยาอายุวัฒนะ จัดให้กันเกราเป็นกลุ่มยาแก้อ่อนเพลีย บำรุงกำลัง บำรุงธาตุ (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี) จากการศึกษาทางพิษวิทยาของกันเกรา พบ ไพนอเรซินอล และนิวคลิโดล (สำเนียง อภิสันติยาคม, 2013) fagraldehyde, secoiridoids (gentiopicroside), sweroside, และ swertiamarin (Jonville et al., 2008)

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) จัดอยู่ในวงศ์ Nelumbonaceae มีสรรพคุณคือ รากและเหง้า มีสรรพคุณแก้ร้อนใน บำรุงกำลัง ขับเสมหะ แก้พุพอง แก่อาเจียน แก้ไข้ แก้ปวดศีรษะ บำรุงโลหิต ช่วยเจริญอาหาร แก่ท้องร่วง ใบ มีสรรพคุณบำรุงร่างกาย แก้ไข้ บำรุงเลือด ดอก เมล็ด และ เกสร มีสรรพคุณ บำรุงกำลัง บำรุงครรภ์ รายงานการวิจัย พบ เมล็ดมีสารประกอบ alkaloids เช่น dehydroroemerine, dehydronuciferine, dehydroanonaine, N-methylisococlaurine, roemerine, nuciferine, anonaine, pronuciferine, N-nornuciferine, nornuciferine amepavine, N-methylcoclaurine, dauricine และ neferine สาร neferine มีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด สารสกัดจากเมล็ด มีฤทธิ์ลดการอักเสบ (20 ปี สวนสมุนไพร สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี)

ติ้ว (*Cratoxylum formosum*) จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae สรรพคุณทางยา ยอด ใบอ่อน ดอกและเถาช่วยบำรุงโลหิต ฟอกโลหิต ช่วยแก้ประจด ช่วยขับลม ช่วยแก้อาการปวดตามข้อ เปลือกต้นนำมาต้มกับน้ำกินแก้ธาตุพิการ รากและใบ ใช้ต้มกับน้ำกินเป็นยาแก้อาการปวดท้อง รากใช้ผสมกับรากปลาไหล และหัวแห้วหมูเป็นยาขับปัสสาวะ แก่นและลำต้น ใช้แช่กับน้ำดื่ม ช่วยแก้ปะดงเลือด (ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี) จากการศึกษาทางพิษวิทยาของติ้ว พบ pruniflorone A-J, dulxisanthone F, β -mangostin, α -mangostin, formoxanthone A, 3-isomangostin, 3,4-dihydro-5,9-dihydroxy-8-methoxy-7-(3-methoxy-3-methylbutyl)-2,2-dimethyl-2H,6H-pyrano-[3,2-b]xanthen-6-

one,3,4-dihydro-5,9-dihydroxy-7-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-8-methoxy-2,2-dimethyl-2*H*,6*H*-pyrano [3,2-*b*]xanthen-6-one, isocudranixanthone B, 10-O-methylmacluraxanthone, 3-geranyloxy-6-methyl-1,8-dihydroxyanthraquinone, 11-hydroxy-5-methoxy-2,2,9-trimethyl-2*H*-anthra-[1,2-*b*]pyran-7,12-dione, vismaquinone A, madagascin, physcion, emodin, formoxanthone, macluraxanthone, xanthone V, gerontoxanthone I, 6-deoxyjacareubin และ 3,4-dihydrojacareubin (Boonnak et al., 2006)

กระโดน (*Careya sphaerica*) จัดอยู่ในวงศ์ Lecythidaceae ยาพื้นบ้านอีสาน ใช้ เปลือกต้น แก่น้ำกัดเท้า แก้วโรครเพาะอาหาร สมานแผลภายใน ตำรายาไทยใช้เปลือกต้น แขน้ำดื่มแก้ปวดท้อง ท้องเสีย แก้วพิษงู แก้วอกเสบจากงูกัด ใบ รสฝาด ใช้รักษาแผลสด ดอก รสสุขุมบำรุงร่างกายหลังคลอดบุตร แก้วหวัด แก้วไอ ผล รสจืดเย็น ช่วยย่อยอาหาร ดอก และน้ำจากเปลือกสด ใช้ผสมกับน้ำผึ้ง เป็นยาแก้หวัด แก้วไอ ใบอ่อน และ ยอดอ่อน รับประทานสดเป็นผักจิ้ม มีรสฝาด ต้น ผสมกับเถาหย่างนองและดินประสิว เคี้ยวให้ววด ดากแห้ง ใช้ปิดแผลมีพิษ ปิดหัวฝี เมล็ด รสฝาดเมา เป็นพิษ (ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

ชะอม (*Acacia pennata*) จัดอยู่ในวงศ์ Mimoseae มีสรรพคุณคือ ใบ ช่วยขับลมขับเสมหะ เปลือกชะอมบดผสมกับฟ้าทะลายโจรและสะเดาใช้รับประทานสำหรับช่วยขับพยาธิ เปลือกหรือต้นชะอม ต้มน้ำกินช่วยเป็นยาขับลม ช่วยขับปัสสาวะ น้ำต้มจากเปลือกหรือลำต้นช่วยแก้อาการท้องเสียและลดอาการอาหารเป็นพิษ รากใช้ต้มน้ำดื่มเป็นยาขับพยาธิ น้ำต้มจากรากชะอมช่วยแก้ท้องอืดท้องเฟ้อและขับลมในกระเพาะอาหาร นำรากมาฝนเป็นผงทาประคบแผล ช่วยรักษาแผลติดเชื้อทำให้แผลแห้งหายได้เร็วขึ้น (เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย) จากการศึกษาทางพิษเคมีของชะอม พบ (2*R*,3*S*)-3,5,7-trihydroxyflavan-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside, (2*S*)-5,7-dihydroxyflavan-7-*O*- β -D-glucopyranoside-(4 α $\rightarrow$ 8)-epiafzelechin-3-*O*-gallate, (2*R*)-4',7-dihydroxyflavan-(4 α $\rightarrow$ 8)-(2*R*,3*S*)-3,5,7-trihydroxyflavan-3-*O*-L-rhamnopyranoside, 5,7-dihydroxyflavone 6-*C*- β -boivinopyranosyl-7-*O*- β -D-glucopyranoside และ 5,7-dihydroxyflavone 7-*O*- β -D-glucopyranosyl-8-*C*- β -boivinopyranoside (Kim et al., 2015)

ย่านาง (*Tiliacora triandra*) จัดอยู่ในวงศ์ Menispermaceae ราก เถา และ ใบ มีสรรพคุณถอนพิษ แก้ไข้ แก้เบื่อเมา ใบสดใช้ปรุงอาหาร ใช้แต่งสีเขียวในอาหารคาว และ ช่วยทำให้น้ำแกงข้นมากขึ้นด้วย ใบแก่ ตำคั้นเอาน้ำสีเขียวนำไปต้มกับหน่อไม้ ช่วยลดรสขื่นของหน่อไม้ได้ดี มีรายงานการวิจัย พบว่ามีสารประกอบ alkaloids หลายชนิด สารสกัดจากใบมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย (20 ปี สอนสมุนไพร สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี) จากการศึกษาทางพิษเคมีของใบย่านาง พบสาร oxoanobline (Rattana et al., 2016) phytol, vitamin E, 1-cyclohexenylacetic acid, oleamide, oleic acid, neophytadiene, hexadecanoate or palmitic acid, 5-hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde, 2,6-dimethyl-3-(methoxymethyl)-benzoquinone (Chaveerach et al., 2016)

แสลง (*Dipterocarpus intricatus*) จัดอยู่ในวงศ์ Dipterocarpaceae ตำรายาไทยใช้ใบ รสฝาด ต้มน้ำผสมน้ำเกลือ อมแก้ปวดฟัน ใบและยาง รสฝาดร้อน น้ำมันยาง สมานแผล แก้วหนอง ขับเสมหะ ขับปัสสาวะ แก้วตกขาว ยาง รสร้อน สมานแผล แก้วหนอง ขับเสมหะ น้ำมัน ใช้ทาแผลภายนอก เปลือกต้น ต้มน้ำดื่มแก้ท้องเสีย (ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี) จากการศึกษา

ทางพฤกษเคมีของเปลือกต้นแสลง พบสารในกลุ่ม resveratrol tetramers ได้แก่ (-)-vaticanol B, (-)-vaticanol C, (-)-hopeaphenol, (+)-stenofillol C และ (+)-diptoinonesin E (Muhtadi et al., 2008)

จากสรรพคุณของสมุนไพรไทยที่กล่าวมาทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดที่ต่างกัน ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสเริม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสมุนไพรไทยไปใช้ประโยชน์เบื้องต้นในการแยกหาสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่และเพื่อใช้เป็นสารต้นแบบในการผลิตเป็นยารักษาอาการเจ็บป่วยได้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาสารสกัดจากเมทานอลของสมุนไพรไทย 10 ส่วนต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด มะเร็งในช่องปาก มะเร็งเต้านม ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสเริม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสมุนไพร

นำตัวอย่างพืชสดมา 8 ชนิด (น้ำหนัก 300 กรัม) แบ่งออกเป็นส่วยย่อย 10 ส่วน ได้แก่ ดอกและใบกันเกรา ดอกแสลง ใบกระโดน ใบตำบ ใบชะอม ใบย่านาง ลูกจันทน์ เปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวง และฐานดอกนุ่นบัวหลวง โดยเก็บในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ให้นำมีขนาดเล็กขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร และทำการแช่หมักด้วยตัวทำละลาย 98% เมทานอล ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 2-3 รอบ ๆ ละประมาณ 5 นาทีเป็นประจำทุกวัน กรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส ได้ส่วนสกัดหยาบเมทานอลทั้งหมด 10 ส่วน (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) ซึ่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ปราศจากตัวทำละลายและทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ได้แก่ การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่ต่างกัน 3 ชนิด คือ มะเร็งในช่องปาก (Human epidermoid carcinoma in the mouth, KB) มะเร็งเต้านม (Human breast cancer cells, BC) และ มะเร็งปอด (Human small lung cancer cells, NCI-H187) ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อไวรัสเริม (Herpes simplex virus type1, anti-HSV-1) ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (Anti-*Mycobacterium tuberculosis*, anti-TB) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH antioxidant activity)

2. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพร

2.1 ซึ่งน้ำหนักของส่วนสกัดหยาบเมทานอลของพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ที่ปราศจากตัวทำละลายอินทรีย์อย่างละเอียดน้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม โดยใช้เครื่องชั่งความละเอียดสูง

2.2 ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ประกอบด้วย ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสเริม ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น มะเร็งในช่องปาก มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด และฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค ด้วยวิธี Resazurin Microplate Assay (REMA) (Brien et al., 2000) โดยทำการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการตรวจหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีดีฟีพีเอช โดยเตรียมสารละลายดีฟีพีเอช (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) ความเข้มข้น 100 μM ในสารละลายเมทานอล (99.8%) และเตรียมสารสกัดที่ต้องการทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 5, 10, 20, 30, 40, 50 และ 100 $\mu\text{g/ml}$ นำสารละลายดีฟีพีเอชและสารสกัดที่ต้องการทดสอบผสมให้เข้ากันโดยให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 2000 μl ตั้งทิ้งไว้ให้สารเกิดปฏิกิริยา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 nm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้วิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐานในการเปรียบเทียบ คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = (\text{Abs control} - \text{Abs sample}) \times 100 / \text{Abs control}$$

นำค่าที่ได้มาหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% (Effective concentration, EC_{50}) (Kriengsak et al., 2006)

ผลการวิจัย

จากผลการนำสารสกัดหยาบเมทานอลของพืชทั้ง 10 ส่วน ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง 3 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ มะเร็งในช่องปาก มะเร็งเต้านม และ มะเร็งปอด ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสเริม และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีฟีพีเอช ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นพิษ (IC_{50}) ของสารสกัดต่อเซลล์มะเร็งในช่องปาก (KB) มะเร็งเต้านม (BC) และมะเร็งปอด (NCI-H187)

Sample	Cytotoxicity (IC_{50} , $\mu\text{g/ml}$)		
	KB ^a	BC ^b	NCI-H187 ^c
ดอกกันเกรา	Inactive ^d	Inactive ^d	Inactive ^d
ใบกันเกรา	Inactive ^d	Inactive ^d	Inactive ^d
ลูกจันทน์	31.99	25.81	16.21
ดอกแสบบง	33.44	46.76	Inactive ^d
เปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวง	Active	Inactive ^d	6.63
ฐานดอกนูนบัวหลวง	Inactive ^d	Inactive ^d	14.67
ใบตั่ว	12.37	Inactive ^d	Inactive ^d
ใบกระโดน	Inactive ^d	Inactive ^d	Inactive ^d
ใบชะอม	Inactive ^d	Inactive ^d	Inactive ^d
ใบย่านาง	Inactive ^d	Inactive ^d	Inactive ^d
Ellipticine ^e	0.296	Inactive ^d	0.441
Doxorubicin ^e	0.113	0.817	0.083

^a Human epidermoid carcinoma in the mouth; ^b Human breast cancer cells.

^c Human small lung cancer cells; ^d Inactive at > 20 $\mu\text{g/ml}$; ^e Positive control. NT = not tested.

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อวัณโรค (MIC) ต้านเชื้อไวรัสเริม (IC₅₀) และต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (EC₅₀) ของสารสกัด

Sample	Anti-TB MIC (µg/ml)	Anti-HSV-1 IC ₅₀ (µg/ml)	Anti-oxidant DPPH EC ₅₀ (µg/ml)
ดอกกันเกรา	Inactive	inactive	92.00
ใบกันเกรา	Inactive	Inactive	>100
ลูกจันทน์	Inactive	Inactive	>100
ดอกแสด	Inactive	Inactive	38.00
เปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวง	inactive	Inactive	9.00
ฐานดอกหุ้มบัวหลวง	inactive	Inactive	3.55
ใบต้ว	50.00	Inactive	21.50
ใบกระโดน	Inactive	Inactive	9.60
ใบชะอม	inactive	Inactive	>100
ใบย่านาง	Inactive	inactive	42.00
Vitamin C	NT	NT	8.90
Rifampicin	0.003-0.012	NT	NT
Streptomycin	0.156-0.313	NT	NT
Isoniazid	0.023-0.046	NT	NT
Ofloxacin	0.391-0.781	NT	NT
Acyclovir	NT	4.063	NT

^aAnti-*Mycobacterium tuberculosis* (Anti-TB) H37Ra; ^bAnti-HSV-1 (Herpes simplex virus type1).

^cHuman small lung cancer cells; ^dInactive at > 20 µg/ml; ^ePositive control. NT = not tested.

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการนำพืชสมุนไพรมาทั้งหมด 10 ส่วน ได้แก่ ดอกและใบกันเกรา ลูกจันทน์ ดอกแสด เปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวง ฐานดอกหุ้มบัวหลวง ใบต้ว ใบกระโดน ใบชะอม และ ใบย่านาง มาทำการสกัดด้วย 98% เมทานอล ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่ต่างกัน 3 ชนิด พบว่า มีสารสกัดจากสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากใบต้ว สารสกัดจากลูกจันทน์ และสารสกัดจากดอกแสด แสดงค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปาก โดย สารสกัดจากใบต้วแสดงผลการต้านเซลล์มะเร็งสูงสุดด้วยค่า IC₅₀ = 12.37 µg/ml ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจาก Promraksa et al. (2015) ที่รายงานว่า สารสกัดจากขึ้นฉะเทศและเมทานอลแสดงค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปาก และ ข้อมูลจาก Medthai (2017) ที่พบว่า สารสกัดตัวขนมีพิษต่อเซลล์มะเร็งที่ค่า IC₅₀ = 93.31 mg/ml ไม่มีผลในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ภูมิคุ้มกันโดยตรง แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิดทีเซลล์และบีเซลล์ มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด (IC₅₀ = 47.4 ± 9.7 mg/ml) และเซลล์มะเร็งตับสูง (IC₅₀ = 64.7 ± 8.7 mg/ml) แต่ไม่มีความจำเพาะของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

มากกว่าเซลล์ไลเนปกติ เมื่อเซลล์ได้รับสารสกัดนาน 3 วัน รองลงมาคือสารสกัดจากลูกจันทน์ผาแสดงค่า $IC_{50} = 31.99 \mu\text{g/ml}$ และสารสกัดจากดอกแสมงแสดงค่า $IC_{50} = 33.44 \mu\text{g/ml}$ สำหรับผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม พบ สารสกัดจากลูกจันทน์ผาและดอกแสมงเท่านั้นที่แสดงฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็งเต้านม ($IC_{50} = 25.81$ และ $46.76 \mu\text{g/ml}$) ตามลำดับ ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดพบว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวงแสดงค่าการต้านเซลล์มะเร็งปอดสูงสุดด้วยค่า $IC_{50} = 6.63 \mu\text{g/ml}$ รองลงมา คือ สารสกัดจากฐานดอกหนุ่ยบัวหลวง ($IC_{50} = 14.67 \mu\text{g/ml}$) และสารสกัดจากลูกจันทน์ผา ($IC_{50} = 16.21 \mu\text{g/ml}$) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Fan et al. (2014) ได้ทำการศึกษาเรซินจากต้นจันทน์ผาซึ่งคนจีนนิยมนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านอาทิเช่น ด้านการอักเสบ ด้านเนื้องอก แก้กเบาหวาน เพิ่มภูมิต้านทานแก่ร่างกาย ฯลฯ โดยทำการสกัดแยกสารและวิเคราะห์สารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีพบมีสารที่เป็นองค์ประกอบหลายชนิด ได้แก่ loureirin A, loureirin B, loureirin C, cochinchinenin, socotrin-4'-ol, 4',7-dihydroxyflavan, 4-methylcholest-7-ene-3-ol, ethylparaben, resveratrol และ hydroxyphenol ซึ่งส่วนหนึ่งของผลการวิจัยมีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสารในกลุ่มสเตอรอยด์ 4-methylcholest-7-ene-3-ol มีฤทธิ์การยับยั้งเนื้องอกชนิด PC-12 tumors ด้วยอัตราส่วนคือ 0.5043 ($10 \mu\text{g/mL}$) จากผลการวิจัยครั้งนี้คาดว่าสารสกัดจากลูกจันทน์ผาน่าจะมีสารออกฤทธิ์ชนิดนี้เป็นองค์ประกอบด้วยทำให้ส่งผลต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) พบเพียงส่วนสกัดจากใบต้วเท่านั้นที่แสดงผลการต้านเชื้อด้วยค่า MIC = $50.00 \mu\text{g/ml}$ สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อไวรัสเริม (Herpes simplex virus type1) ไม่พบสารสกัดจากพืชชนิดใดที่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อไวรัสชนิดนี้ และผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช พบ สารสกัดจากฐานดอกหนุ่ยบัวหลวงแสดงผลการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชสูงสุดด้วยค่า $EC_{50} = 3.55 \mu\text{g/ml}$ อีกทั้งยังแสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าประมาณสองเท่าเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี ($EC_{50} = 8.90 \mu\text{g/ml}$) ด้วย สำหรับสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดบัวหลวง แสดงค่า การต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารมาตรฐานวิตามินซี ($EC_{50} = 9.00 \mu\text{g/ml}$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Keshav and Nisha (2015) ที่ศึกษาเกี่ยวกับศักยภาพทางยาของบัวที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น ดอกมีสรรพคุณแก้ท้องเสีย แก้ไข้ เหง้ามีสรรพคุณด้านการอักเสบ ด้านเบาหวาน เมล็ดมีสรรพคุณด้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ตูเลผิว ฯลฯ ซึ่งสารองค์ประกอบทางเคมีของบัวที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลักได้แก่ กลุ่มสารประกอบแอลคาลอยด์และสารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยสารประกอบทั้งสองกลุ่มนี้พบได้ในทุกส่วนของบัว ดังนั้น จึงคาดว่าน่าเป็นเหตุผลที่ทำให้สารสกัดจากบัวทั้งสองส่วนแสดงการออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ดี (Pietta, 2000; Liu et al., 2014) รองลงมา คือ สารสกัดจากใบกระโดน ($EC_{50} = 9.60 \mu\text{g/ml}$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Daduang et al. (2011) ที่ทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักจำนวน 30 ชนิด พบว่า ใบกระโดน มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด $121.27 \pm 0.05 \text{ mg GAE/g dry wt}$ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช เท่ากับ $0.99 \pm 0.02 \text{ mM TEAC/g dry wt}$ ส่วนสารสกัดหยาบที่แสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระในระดับน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี ได้แก่ ใบต้ว ดอกแสมง ใบย่านาง และดอกกันเกรา ($EC_{50} = 21.50, 38.00, 42.00$ และ $92.00 \mu\text{g/ml}$, ตามลำดับ) แต่ยังมีสารสกัดจากใบกันเกรา ลูกจันทน์ผาและใบชะอมที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเลย

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ พบ สารสกัดจากบัวหลวงทั้งในส่วนฐานดอกนูน และส่วนเปลือกหุ้ม เมล็ดบัวหลวง ซึ่งทั้งสองส่วนนี้เป็นส่วนที่เหลือทิ้งทั้งหมด และยังไม่เคยมีรายงานการวิจัยส่วนนี้มาก่อน แต่แสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระที่สูงมากเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี ดังนั้น จึงเป็นข้อมูลที่น่าสนใจมากสำหรับการเพิ่มมูลค่าของสมุนไพร และเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดสมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่างๆ เช่น เครื่องสำอาง อาหารเสริม หรือ ยารักษาโรคที่ดีต่อไปในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่สนับสนุนเงินทุนสำหรับงานวิจัย ขอขอบคุณ คุณรัชดา หริตกุล และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิจัยหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่อนุเคราะห์ทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อวันโรคเชื้อไวรัสเริม และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

เอกสารอ้างอิง

โครงการจัดทำฐานข้อมูลพืชสมุนไพรที่สำรวจและวิจัยภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ) มหาวิทยาลัยขอนแก่น. “ตัวขน หรือ ตัวหนาม”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: home.kku.ac.th/orip2/thaiherbs/. [04 พ.ย. 2016].

ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. “ตัวขาว”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : www.phargarden.com. [15 ม.ค. 2017]

บัญชียาหลักแห่งชาติ. (2556) [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:

http://www.thaihof.org/sites/default/files/herbal_book_56_0.pdf [15 ม.ค. 2017]

วงศ์สถิต ฉั่วสกุล และอำพล บุญเปล่ง. (2547). สมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี. วารสารสมุนไพร ปีที่ 11(1) มิ.ย. 2547. 33-54.

เว็บพืชเพื่อเกษตรไทย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://puechkaset.com/> [15 ม.ค. 2017]

สำเนียง อภิสันติยาคม. (2013). การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเปลือก รากต้นกันเกรา (*Fagraea fragrans* Roxb.) Journal of Science Ladkrabang. 22(2): 68-83.

20 ปี สวนสมุนไพร สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

MedThai. บัวหลวง สรรพคุณและประโยชน์ของดอกบัวหลวง 83 ข้อ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://medthai.com/บัวหลวง/> [15 ม.ค. 2017]

MedThai. ตัวขน สรรพคุณและประโยชน์ของตัวขน 12 ข้อ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://medthai.com/ตัวขน/> [15 ม.ค. 2017]

Brien, J. O., Wilson, I., Orton, T., Pognan, F. (2000). European Journal of Biochemistry. 267, 5421.

- Boonnak, N., Karalai, C., Chantrapromma, S., Ponglimanont, C., Fun, H., Kanjana-Opas, A. and Laphookhieo, S. (2006). Bioactive Prenylated Xanthenes and Anthraquinones from *Cratogeomys formosum* ssp. *pruniflorum*. *Tetrahedron*. 62: 8850-8859.
- Chaveerach, A., Lertsatitthanakorn, P., Tanee, T. Puangjit, N., Patarapadungkit, N. and Dudmoon, R. (2016). Chemical Constituents, Antioxidant Property, Cytotoxicity and Genotoxicity of *Tiliacora triandra*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8(5): 722-729.
- Chi-Ming, L., Chiu-Li, K., Hui-Ming, W., Wei-Jen L., Cheng-Tsung, H., Hsing-Tan, L., and Chung-Yi, C., (2014). Antioxidant and Anticancer Aporphine Alkaloids from the Leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. cv. *Rosa-plena*. *Molecules*. 19: 17829-17838.
- Daduang, J., Vichitphan, S., Daduang, S., Hongsprabhas, P. and Boonsiri, P. (2011). High Phenolics of some Tropical Vegetables related to Antibacterial and Anticancer Activities. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5(5): 608-615.
- Fan, J-Y., Tao, Y., Chui-Mei, S., Lin, Z., Wan-Ling, P., Ya-Zhou, Z., Zhong-Zhen, Z., and Hu-Biao, C. (2014). A Systematic Review of the Botanical, Phytochemical and Pharmacological Profile of *Dracaena cochinchinensis*, a Plant Source of the Ethanomedicine "Dragon's Blood". *Molecules*. 19: 10650-10669.
- Jonville, M., Capel, M., Fr  d  rich, M., Angenot, L., Dive, G., Faure, R., Azas, N. and Ollivier, E. (2008). Fagraldehyde, a Secoiridoid Isolated from *Fagraea fragrans*. *Journal of Natural Products*. 71(12): 3038-2040.
- Keshav, R. P. and Nisha, P. (2015). Phytochemical Profile and Biological Activity of *Nelumbo nucifera*. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-16.
- Kim, A., Choi, J., Htwe, K. M., Kim, J. and Yoon, K. D. (2015). Flavonoid Glycoside from the Aerial Parts of *Acacia pennata* in Myanmar. *Phytochemistry*. 118: 17-22.
- Kriengsak, T., Unaro, jB. and Kelvin, C. (2006). Composition of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 669-675.
- Likhitayawuid, K. Sawasdee, K. and Kirtikara, K. (2002). Flavonoids and Stilbenoids with COX-1 and COX-2 Inhibitory Activity from *Dracaena loureiri*. *Planta Medica*. 68(9): 841-843.
- Liu, C-M., Chiu-Li, K., Hui-Ming, W., Wei-Jen L., Cheng-Tsung, H., Hsing-Tan, L., and Chung-Yi, C., (2014). Antioxidant and Anticancer Aporphine Alkaloids from the Leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. cv. *Rosa-plena*. *Molecules*. 19: 17829-17838.

- Muhtadi, Hakim, E. H., Syah, Y. M., Juliawaty, L. D., Achmad, A. and Latip, J. (2008). Resveratrol tetramer compounds from *Diterocarpus intricatus* and activity against murine leukemia P-388 cells. Proceeding of The International Seminar on Chemistry 2008. 585.
- Pietta, P-G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural Products. 63: 1035-1042.
- Promraksa, B., Daduang, J., Khampitak, T., Tavichakorntrakool, R., Koraneekit, A., Palasap, A., Tangrassameeprasert, R. and Patcharee, B. (2015). Anticancer potential of *Cratoxylum formosum* subsp. *pruniflorum* (Kurz.) Gogel. extracts against cervical cancer cell lines. Asian Pac J Cancer Prev. (In press)
- Rattana, S., Cushnie, B., Taeponsorat, L. and Phadungkit, M. (2016). Chemical Constituents and in Vitro anticancer activity of *Tiliacora triandra* leaves. Pharmacognosy Journal. 8 (1): 1-3.