



ฤทธิ์ของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยงต่อการต้านมะเร็งและการกลืนกิน สิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ

Biological activities of *Basella alba*, *Polygonum odoratum* and *Limnophila geoffrayi* Bonati extracts against cancer and phagocytosis of macrophage

สุวรรณา เสมศรี^{1*} นันทิกานต์ ยงพิศาลภพ¹ นวพร คงด้วง¹ สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา²
และ วิชาญ จันทรวิทยานุชิต³

¹ กลุ่มวิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

² สาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

³ กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

Suwanna Semsri^{1*}, Nuntikan Yongpisanpob¹, Nawaporn Kongduang¹,
Sureporn Homvisasevongsa² and Wicharn Janwitayanuchit³

¹ Division of Clinical Microscopy, Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

² Division of Physical Science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

³ Division of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

Received: 12 November 2018/ Revised: 20 December 2018/ Accepted: 26 December 2018

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งและการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจจากสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยง จากการศึกษาฤทธิ์การต้านมะเร็งด้วยวิธีเอ็มทีทีและการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ด้วยวิธีเอนบีที พบว่าสารสกัดผักแขยงมีความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 มากที่สุด ที่ 52.6 ± 7.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดผักแพวและผักปลัง ที่ 56.1 ± 10.90 และ 120.1 ± 15.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดผักแขยงและผักปลังที่ความเข้มข้น 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ได้ร้อยละ 14 และสารสกัดผักแพวที่ความเข้มข้น 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพิ่มประสิทธิภาพในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม ได้ร้อยละ 10 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมการทดสอบจากผลการศึกษานี้พบว่า สารสกัดผักแขยงนอกจากมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งสูงแล้ว ยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมได้มากขึ้นอีกด้วย

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านมะเร็ง กลืนกินสิ่งแปลกปลอม ผักปลัง ผักแพว ผักแขยง

Corresponding author: ssemsri@gmail.com



Abstract

The aim of this study was to investigate the anti-cancer and phagocytosis activity of *Basella alba*, *Polygonum odoratum* and *Limnophila geoffrayi* Bonati extracts. The anti-cancer activity was evaluated by MTT assay and phagocytosis activity in macrophage cell line (RAW264.7) measured by NBT reduction test. The results showed that the cytotoxicity (IC_{50}) of *L. geoffrayi* Bonati is the best activity 52.6 ± 7.54 $\mu\text{g/ml}$. The *P. odoratum* and *B. alba* extracts showed 56.1 ± 10.90 and 120.1 ± 15.44 $\mu\text{g/ml}$, respectively. They were non-toxic to Vero cell line (normal cell model). In addition, *L. geoffrayi* Bonati and *Basella alba* extracts at the concentration of 125 $\mu\text{g/ml}$ can increase the phagocytosis activity of RAW264.7 cell line by 14% whereas the *P. odoratum* extract at the concentration of 31.25 $\mu\text{g/ml}$ increased phagocytosis activity by 10% comparing with the vehicle control. In conclusion, these results indicated that the *L. geoffrayi* Bonati extract displayed not only anti-cancer activity but also phagocytosis stimulator.

Keywords: Anti-cancer, Phagocytosis, *Basella alba*, *Polygonum odoratum*, *Limnophila geoffrayi*

บทนำ

มะเร็งเป็นกลุ่มโรคที่มีความผิดปกติในการควบคุม การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ อาจเกิดจากสารหรือสิ่งแปลกปลอม ที่กระตุ้นหรือเหนี่ยวนำทำให้เกิดความผิดปกติในระดับสาร พันธุกรรม ส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต การแบ่งตัว และการแพร่กระจายที่ผิดปกติ ส่งผลให้อวัยวะนั้น ๆ มีการ ทำงานที่เปลี่ยนแปลงไป และนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด [1] ปัจจุบันพบว่าผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นเป็น 9 ล้านคน และคาดการณ์ว่าจะเพิ่มขึ้นเป็น 15 ล้านคน ในปี พ.ศ. 2563 ซึ่งผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นประชากรในกลุ่มประเทศ กำลังพัฒนา [2] และในประเทศไทยโรคมะเร็งเป็นสาเหตุ สำคัญของการเสียชีวิต [3] จากรายงานของสถาบันมะเร็ง แห่งชาติ พบว่าจำนวนผู้ป่วยโรคมะเร็งในประเทศไทยมี จำนวนเพิ่มขึ้นทุก ๆ ปี โดยโรคมะเร็งจัดเป็นโรคที่คร่าชีวิต คนไทยเป็นอันดับต้น ๆ [4] โรคมะเร็งที่พบในประเทศไทยมี หลายชนิด ได้แก่ มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งเต้านม และมะเร็ง เม็ดเลือดขาว สำหรับการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวใน ปัจจุบันมีวิธีการรักษาหลากหลาย เช่น การใช้รังสีรักษา (radiotherapy) หรือเคมีบำบัด (chemotherapy) ซึ่งมีผล ข้างเคียงกับคนไข้มาก นอกจากนี้ภาวะระบบภูมิคุ้มกันโรคที่ ต่ำจะส่งผลทำให้มีการเติบโตและการกระจายของเซลล์

มะเร็ง ซึ่งการรักษาด้วยการผ่าตัดและเคมีบำบัดในผู้ป่วย มะเร็งอาจมีผลทำลายระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยได้ และเกิด ปัญหาที่ทำให้ภูมิคุ้มกันลดลงหรือบกพร่องลง ซึ่งเป็นปัญหา หนึ่งที่ทำให้การรักษาผู้ป่วยมะเร็งไม่ประสบผลสำเร็จ ซึ่งจะ เห็นได้จากการกลับเป็นซ้ำของโรค ดังนั้นนักวิจัยจึงได้ พยายามที่จะหาสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติไปใช้ในการรักษา และป้องกันการเกิดมะเร็งโดยสารสกัดธรรมชาติจะลดผล ข้างเคียงที่จะเกิดกับผู้ป่วยได้ เนื่องจากสารสกัดเหล่านี้เป็น สิ่งที่เป็นองค์ประกอบของอาหารที่รับประทานกันทุกวัน

ผักมีหลากหลายชนิดซึ่งไม่เพียงแต่เป็นยารักษาโรค เท่านั้น แต่ยังสามารถนำมาบริโภคในรูปอาหารหรือเครื่องดื่ม สมุนไพร โดยสมุนไพรที่นำมาศึกษานั้นเป็นสมุนไพรที่นิยม นำมาบริโภคในรูปของอาหาร และมีสรรพคุณในการช่วยต้าน มะเร็ง ได้แก่ ผักปลั่ง (*Basella alba* Linn.) ผักแพว (*Polygonum odoratum* Lour.) และผักแขยง (*Limnophila geoffrayi* Bonati.) ผักปลั่งมีรสหวานเย็น มีฤทธิ์ขับปัสสาวะ แก้กกลาก แก่ผื่นคัน แก่อักเสบบวม ลดภาวะเสี่ยงเป็น โรคเบาหวานได้ [5] และมีสารประกอบสำคัญคือ แคโรทีนอยด์ วิตามิน A และ C [6] จากงานวิจัยของ Krishnendu [7] ศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตและการตายของเซลล์ด้วย สารสกัดผักปลั่งในเซลล์ U937 พบว่าสารสกัดผักปลั่ง

สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ U937 ได้ และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ RAW264.7 ผักแพ้วมีสรรพคุณทางแพทย์แผนโบราณ ได้แก่ บำรุงประสาท ช่วยทำให้เจริญอาหาร ทำให้เลือดลมในร่างกายเดินสะดวกมากขึ้น รักษาโรคกระเพาะอาหาร แก้อาการท้องผูก รักษาโรคปอด รักษาหอบหืด เป็นยาขับปัสสาวะ รักษาโรคตับแข็ง ลดอาการอักเสบใช้แก้ตุ่มคัน ผดผื่นคันจากเชื้อรา และแก้ปวดข้อปวดกระดูก [8, 9] ผักแพ้วถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคในแพทย์แผนโบราณ รักษาอาการบาดเจ็บและโรคทั่วไป และมีสารต้านอนุมูลอิสระ หลายชนิดที่ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรคให้กับร่างกาย รวมทั้งช่วยในการชะลอวัย [9] จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักแพ้วในหลอดทดลองและในร่างกายของหนูแรท พบว่าผักแพ้วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระบริสุทธิ์ และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของตับ ไต และเมื่อวัดระดับเอนไซม์ AST และ ALT ในซีรัมของสัตว์ทดลองพบว่าไม่เปลี่ยนแปลง [10] ผักแพ้วมีสรรพคุณทางยาทำให้เจริญอาหาร ช่วยขับน้ำนม ป้องกันเส้นเลือดตีตัน ลดไข้ เป็นยาขับลม ยาระบายท้อง แก้อาการคัน กลาก ฝี่ [5] และมีรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดจากผักแพ้วมีสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ nevadensin, nevadensin-7-*o*- β glycopyranoside และฟลาโวน อื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลิกในผักแพ้วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี [11] ซึ่งจากงานวิจัยในสารสกัดของผักแพ้วที่สกัดด้วยเอทานอล โดยวัดปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์พบว่า มีปริมาณของฟลาโวนอยด์สูง และยังพบว่า ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดของผักแพ้วนั้นไม่เป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนปกติ และจากการทดสอบความเป็นพิษใน Jurkat cell พบว่า สารสกัดของผักแพ้วช่วยลดการแบ่งตัว (proliferation) ของเซลล์ได้ในระดับปานกลางที่ IC₅₀ และเมื่อเลี้ยงร่วมกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ก่อให้เกิดความเป็นพิษที่มีศักยภาพสูงในเซลล์ MCF7 [12] ดังนั้นการศึกษานี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาว และการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจของสารสกัดผักทั้ง 3 ชนิด เนื่องจากยังมีการศึกษาและรายงานน้อยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้าน

มะเร็งเม็ดเลือดขาว และการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ รวมทั้งเพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนถึงประโยชน์และคุณค่าของการบริโภคผักปลัง ผักแพ้ว และผักแขยง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัด

ผักปลัง ผักแพ้ว และผักแขยง ซึ่งจากตลาดสด เขตอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ (เดือนเมษายน 2559) นำผักทั้ง 3 ชนิด มาล้างและตากแห้ง บดให้ละเอียดและแช่ด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1 กรัมต่อ 20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 วัน กรองและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบลดความดัน (rotary evaporator) จากนั้นทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) ทำการเก็บสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนทำการทดสอบ

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero cell (จริยธรรมงานวิจัยเลขที่ อ.419/2559)

นำเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 (human T lymphoblast) มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มี FBS ร้อยละ 10 ใน RPMI 1640 โดยมี penicillin ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ streptomycin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero (African green monkey kidney cell) นำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มี FBS ร้อยละ 10 ใน MEM โดยมี penicillin ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ streptomycin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่มี FBS ร้อยละ 10 โดยมี penicillin ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ streptomycin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 85



3. การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยงต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero โดยวิธี MTT [3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-5 diphenyltetrazolium bromide]

จำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการทดสอบ คือ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 เท่ากับ 2×10^5 ส่วนเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero เท่ากับ 5×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพาะเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม (96-well plate) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ที่มี FBS ร้อยละ 10 (เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4) หรือ MEM (เซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนของสารสกัดความเข้มข้น 500,

250, 125, 62.5, 31.25 และ 15.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนชุดควบคุมการทดสอบ (vehicle control; VC) เติมหาอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเฉพาะ dimethyl sulfoxide (DMSO) ส่วนชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) คือ ยาเคมีบำบัดวินคริสติน (vincristine) เป็นยาที่สกัดได้จากรากแพงพวยฝรั่ง [13] โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 1 ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเปิดต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วบ่มต่อ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ครบเวลาเติม DMSO เพื่อละลายผลิตภัณฑ์ฟอร์มazan) ที่เกิดขึ้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 นาโนเมตร โดยในแต่ละความเข้มข้นทำ 3 หลุม และแต่ละการทดลองทำซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน คำนวณร้อยละของการมีชีวิต (% cell viability) เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงในหลุมควบคุม

$$\% \text{ cell viability} = (\text{ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ} / \text{ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม}) \times 100$$

4. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดต่อการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม ด้วยวิธี NBT reduction

นำเซลล์แมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 จำนวน 1×10^5 เซลล์ต่อหลุม ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM แบบ complete medium โดยเติมลงใน 96-well plate ปริมาตรหลุมละ 100 มิลลิตร บ่มในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปิดต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ออกและเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดผักปลัง ผักแพว หรือผักแขยงที่มีความเข้มข้น 15.625-250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร สำหรับชุดควบคุมการทดสอบใช้ DMSO ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับร้อยละ 0.5 นำไปบ่มในตู้ที่มี

คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นล้างเซลล์ด้วย PBS จำนวน 2 ครั้ง แล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี FBS ร้อยละ 10 ใน DEME โดยมี zymosan ความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ NBT ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร หลุมละ 50 ไมโครลิตร บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างตะกอนด้วย PBS จำนวน 2 ครั้ง ตามด้วยเมทานอล จำนวน 1 ครั้ง ละลายตะกอนโดยเติม KOH ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตรหลุมละ 60 ไมโครลิตร และ DMSO ปริมาตรหลุมละ 70 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร โดยคำนวณร้อยละของ NBT reduction หรือ % phagocytosis จากสมการ

$$\% \text{ phagocytosis} = (\text{absorbance test} / \text{absorbance vehicle control}) \times 100$$



ทั้งนี้ได้ทำการศึกษาการมีชีวิตอยู่ของเซลล์ด้วยวิธี MTT ควบคุมได้ด้วย เพื่อใช้ในการแปลผลการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม โดยเซลล์จะต้องมีชีวิตมากกว่าร้อยละ 80

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองแสดงในรูปของ Mean±SD และ one way ANOVA โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

ผลการวิจัย

1. การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero โดยวิธี MTT

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยง พบว่าสารสกัดผักปลังมีความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 ที่ความเข้มข้น 120.4 ± 15.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดผักแพวเท่ากับ 56.1 ± 10.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดผักแขยงเท่ากับ 52.6 ± 7.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดผักแขยงมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 ที่ที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดผักปลัง ($p < 0.05$) ทั้งนี้ได้ใช้ยาเคมีบำบัด

วินคริสตินเป็นชุดควบคุมเชิงบวก (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 แต่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดผักแขยงมีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 มากที่สุด และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero

2. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดต่อการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมด้วยวิธี NBT reduction

ฤทธิ์ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ต่อการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 จะถูกพิจารณาเมื่อค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรนั้น ๆ ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโครฟาจมีชีวิตรอดมากกว่าร้อยละ 80 โดยจากการทดสอบพบว่า ที่ความเข้มข้น 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดผักแพว และที่ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดผักปลังและผักแขยงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจได้ร้อยละ 10 และ 14 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงลบ (DMSO) (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1)



ตารางที่ 1 ความเป็นพิษและความจำเพาะของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยงต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero โดยวิธี MTT

ชนิดของสารสกัด	IC ₅₀ ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (Mean±SD)		
	Molt4	Vero cell	Vero : Molt4
ผักปลัง	120.4±15.44	335.4±7.9	2.8
ผักแพว	56.1±10.90*	320.4±13.1	5.7
ผักแขยง	52.6±7.54*	197.2±4.37	3.7
วินคริสติน	41.4±9.80	None	None

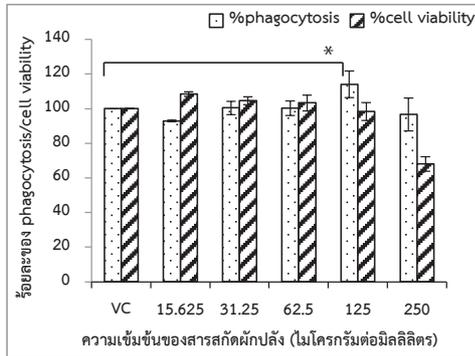
(ชุดควบคุมเชิงบวก)

* หมายถึง ผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p < 0.05$)
None หมายถึง ไม่ได้ทดสอบ

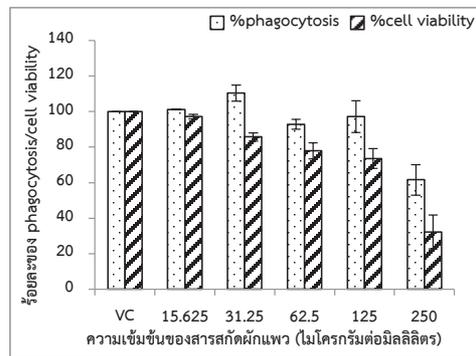
ตารางที่ 2ฤทธิ์ของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยงต่อความสามารถในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโคฟางเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 โดยวิธี NBT reduction

ความเข้มข้นของสารสกัด	ร้อยละของการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (mean±SD)			ร้อยละการมีชีวิตอยู่ (mean±SD)		
	ผักปลัง	ผักแพว	ผักแขยง	ผักปลัง	ผักแพว	ผักแขยง
ชุดควบคุมการทดสอบ (VC)	100±0.31	100±0.91	100±0.23	100±0.37	100±0.12	100±0.50
15.625	93±0.51	101±0.40	98±5.13	108±1.31	97±1.22	107±2.30
31.25	100±3.80	110±4.60	98±4.59	105±2.32	86±2.34	98±1.28
62.5	100±4.19	93±2.88	102±4.20	103±4.56	78±4.51	101±5.23
125	114*±7.70	97±8.92	114*±10.30	98±5.11	74±5.63	98±4.21
250	97±9.61	62±8.51	65±14.80	68±4.21	32±9.54	67±3.29

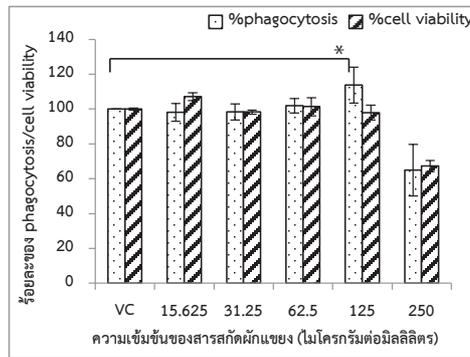
(ก)



(ข)



(ค)



ภาพที่ 1ฤทธิ์ของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยงต่อความสามารถในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 และ การมีชีวิตของเซลล์ (ก) ฤทธิ์ของสารสกัดผักปลัง (ข) ฤทธิ์ของสารสกัดผักแพว (ค) ฤทธิ์ของสารสกัดผักแขยง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การนำสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติมาใช้ในการรักษา และป้องกันการเกิดมะเร็งได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากลดผลข้างเคียงจากการรักษา เพราะสารสกัดจากธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นพืชหรือผักที่เป็นองค์ประกอบในอาหาร นอกจากนี้ยังเป็นการลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศ ซึ่งนำไปสู่การลดค่าใช้จ่ายในการรักษา สารสกัดจากผักหลายชนิดที่ถูกลำมาศึกษาวิจัย เช่น สารสกัดผักปลังมีการรายงานว่ามีสารประกอบกลุ่มฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง (68.32 เปอร์เซ็นต์) และวิตามินซีสูง [6, 14] สารสกัดผักแพวมีการรายงานฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ มีสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ช่วยลดการตายของเซลล์

ระบบประสาทซึ่งช่วยป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer’s disease) โดยยับยั้งการเกาะตัวของ Aβ42 [9] สารสกัดผักแขยงมีสารประกอบสำคัญ คือ กลุ่มฟีนอล [15] ส่วนการศึกษาในด้านฤทธิ์การต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวมีการรายงานน้อยมาก และยังไม่มีการรายงานถึงฤทธิ์ในการส่งเสริมการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ โดยการศึกษาพบว่าสารสกัดผักแขยงโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 มากที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดผักแพวและผักปลัง ตามลำดับ

นอกจากนี้สารสกัดผักแขยง ผักแพว และผักปลัง ยังไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ดังนั้น



การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดผักปลัง ผักแพว และ ผักแขยงมีความจำเพาะในการทำลายเซลล์มะเร็ง เม็ดเลือดขาว โดยไม่ทำลายเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ซึ่งสอดคล้องกับการรายงาน ว่า ผักแขยงไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เม็ดเลือดขาวของคนปกติ [16] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดผักปลังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ มะเร็งตับชนิด Ehrlich's Ascites Carcinoma และยังมี โปรตีนที่เรียกว่า เลคติน (lectin protein) ซึ่งมีคุณสมบัติ ป้องกันการเกิดมะเร็ง (anticancer) โดยศึกษาการทำงานของ โปรตีนเลคตินด้วยวิธี hemagglutination พบว่าที่ ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการ เกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงแพะ [17] สารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยงมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และ การศึกษานี้ยังพบว่าฤทธิ์สารสกัดผักแขยงในการทำลายเซลล์ มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 นั้น ไม่แตกต่าง จากยาเคมีบำบัดวินคริสตินที่ใช้ในการรักษามะเร็งเม็ดเลือด ในปัจจุบัน

นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาความสามารถในการ กลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโครฟาจ เนื่องจากสารสกัดที่จะถูกพัฒนาต่อให้เป็นยาในการรักษาต่อไป นั้น ควรมียูทรีส่งเสริมการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม เพื่อจะได้ กลืนกินเซลล์มะเร็งที่ถูกทำลาย และป้องกันการติดเชื้อ เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยมะเร็งนั้นอ่อนแอและภูมิคุ้มกันต่ำ ซึ่งง่ายต่อการติดเชื้อ จากการศึกษาพบว่า สารสกัดผักแพวการ ส่งเสริมการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมเพิ่มขึ้นร้อยละ 10 ที่ระดับ ความเข้มข้น 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดผักปลัง และผักแขยงมียูทรีส่งเสริมการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมได้มากกว่า สารสกัดผักแพว คือ ร้อยละ 14 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งการที่ เซลล์มีการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมมากขึ้นนั้นไม่น่าจะ เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ นอกจากนี้ยังมียูทรีในการ เสริมสร้างกระดูก [18] และมีรายงานว่าสารสกัดจากยาหม้อ สมุนไพรประกอบด้วยลูกใต้ใบ มะขาม และเตยหอมเพิ่มการ ทำหน้าที่ของเซลล์นิวโทรฟิลในการจับกินสิ่งแปลกปลอมได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) [19] และสารสกัด

astragalus polysaccharides และ astragalosides สามารถเพิ่มการกลืนกินเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ของแมคโครฟาจ และเหนี่ยวนำให้มีการ หลั่งสาร cytokine [20] ในขณะที่สารสกัดผักคาวตองที่สกัด จากน้ำสามารถกระตุ้นเซลล์แมคโครฟาจให้มีการจับกินเชื้อ *Salmonella* ได้มากขึ้น [21] ดังนั้นจากผลการทดสอบนี้ จึงนับว่าเป็นแนวโน้มที่ดีของการที่จะนำผักแขยงมาใช้ในการ รักษา มะเร็ง เนื่องจากยารักษา มะเร็งที่ดีควรจะกระตุ้นให้ เซลล์ในกลุ่มที่ทำหน้าที่ในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมทำงาน ดีขึ้น นอกจากนี้ยังจะช่วยลดการติดเชื้อของร่างกายเนื่องจาก ผู้ป่วยมะเร็งที่มีภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำมีความเสี่ยงต่อ การติดเชื้อง่าย

จากข้อมูลวิจัยเบื้องต้นนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัด ผักแขยงมียูทรีในการต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 ได้ดีที่สุด และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ทั้งนี้ยัง ส่งเสริมในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ ให้มากขึ้น ดังนั้นผักแขยงจึงเป็นผักอีกชนิดหนึ่งที่น่าจะ เป็นทางเลือกในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวด้วยธรรมชาติ บำบัด หรือส่งเสริมให้ประชาชนดูแลสุขภาพ และรับประทาน อาหารที่มีองค์ประกอบของผักให้มากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็น ข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาสารสำคัญของผักพื้นบ้านที่ ออกฤทธิ์ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวในอนาคตอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์เบญจวรรณ สมบูรณ์สุข โรงเรียนแพทย์แผนโบราณวัดพระเชตุพนวิมล มังคลารามและโรงเรียนแพทย์แผนไทยในการพิสูจน์ เอกลักษณ์ของพืช และรองศาสตราจารย์ ดร.ทรงยศ อนุชปริดา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการอนุเคราะห์เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 และรองศาสตราจารย์ ดร.เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการ อนุเคราะห์เซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero และ ผู้ช่วย ศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา พันธุรี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการอนุเคราะห์เซลล์แมคโครฟาจ



เพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 และขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สำหรับการสนับสนุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. มะเร็งคืออะไร. [อินเทอร์เน็ต]. 2560 [เข้าถึงเมื่อ 27 ธ.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.nci.go.th/th/Knowledge/whatis.html>
2. Garcia M, Jemal A, Ward EM, Center MM, Hao Y, Siegel RL, et al. Global cancer facts and figures. American Cancer Soc 2007;18:12-4.
3. Sriplung H, Sontipong S, Martin N, Wiangnon S, Vootiprux V, Cheirsilpa A, et al. Cancer incidence in Thailand, 1995-1997. Asian Pac J Cancer 2005;6(6):276-81.
4. ภัทรวิรินทร์ อัดตะสธาระ, รังสิยา บัวส้ม. รายงานทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล (hospital-based cancer registry). กรุงเทพฯ: บริษัท ยูเนียน อุลตราไวโอเรต จำกัด; 2555.
5. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. สารานุกรมสมุนไพร: รวมหลักเภสัชกรรมไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์; 2540.
6. Silva L, Souza DC, Resende LV, Nassur R, Samartini CQ, Goncalves WM. Nutritional evaluation of non-conventional vegetables in Brazil. An Acad Bras Cienc 2018;90(2):1775-87.
7. Krishnendu P. Cell growth inhibition and apoptosis by extract of *Basella alba* plant on U937 cells. World J Pharm Pharm Sci 2016;5:1251-61.
8. Sungkamanee S, Wattanathorn J, Muchimapura S, Thukham-mee W. Antiosteoporotic effect of combined extract of *Morus alba* and *Polygonum odoratum*. Oxid Med Cell Longev 2014;2014:579305.
9. Junsathian P, Yordtong K, Corpuz HM, Katayama S, Nakamura S, Rawdkuen S. Biological and neuroprotective activity of Thai edible plant extracts. Ind Crops Prod 2018;124:548-54.
10. นันทิยา สมภารม, จริญญาพร เนาวบุตร, ศุภเกต แสนทวีสุข, อัจฉราพร แฉวมอ. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักแพวในหลอดทดลองและในร่างกายของหนูแรท. ธรรมชาติวิทยา 2557;1:60-71.
11. อรณัฐ นาคชาติ, วรณา เอกทอง, อรณัฐ คงลัก. สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผงผักแขยง. วารสารวิทยาศาสตร์ คชสส 2557;36(2):55-64.
12. Woraratphoka J, Intarapichet K, Indrapichate K. Antioxidant activity and cytotoxicity of six selected, regional, Thai vegetables. Am Euras J Toxicol Sci 2012;4(2):108-17.
13. Cassidy JM, Baird WM, Chang CJ. Natural products as a source of potential cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. J Nat Prod 1990;53:23-41.
14. Kumar SS, Manoj P, Giridhar P. Nutrition facts and functional attributes of foliage of *Basella* spp. LWT Food Sci Technol 2015;64:468-74.
15. Jang DS, Su BN, Pawlus AD, Jones WP, Kleps RA, Bunyapraphatsara N, et al. Limnophilaspiroketone, a highly oxygenated phenolic derivative from *Limnophila geoffrayi*. J Nat Prod 2005;68(7):1134-6.



16. Islam MS, Rahi MS, Jahangir CA, Rahman MH, Jerin I, Amin R, et al. *In vivo* anticancer activity of *Basella alba* leaf and seed extracts against Ehrlich's ascites carcinoma (EAC) cell line. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018;1537896:1-11.
17. Woraratphoka J, Intarapichet K, Indrapichate K. Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand. *Food Chem* 2007;104:1485-90.
18. Wattanathorn J, Somboonporn W, Sungkamanee S, Thukummee W, Muchimapura S. A double-blind placebo-controlled randomized trial evaluating the effect of polyphenol-rich herbal congee on bone turnover markers of the perimenopausal and menopausal women. *Oxid Med Cell Longev* 2018;2091872:1-11.
19. Khamchun S, Baiubol P, Nilsri N. Effects of folk wisdom boiled herb extract, *Phyllanthus amarus* Schum&Thorn, *Phyllanthus acidus* (L.) skeels and *Pandanus amaryllifolius* on neutrophil, red blood cell and platelet functions. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2015;48:144-53.
20. Xu HD, You CG, Zhang RL, Gao P, Wang ZR. Effects of astragalus polysaccharides and astragalosides on the phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis* by macrophages. *J Int Med Res* 2007;35:84-90.
21. Kim GS, Kim DH, Lim JJ, Lee JJ, Han DY, Lee WM, et al. Biological and antibacterial activities of the natural herb *Houttuynia cordata* water extract against the intracellular bacterial pathogen *Salmonella* within the RAW 264.7 macrophage. *Biol Pharm Bull* 2008;31:2012-7.