



ฤทธิ์ต้านอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพูและลำแพน
ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง

Anti-inflammation Activities and Cytotoxicity of *Sonneratia caseolaris* (L)
(Lamphu) and *Sonneratia ovata* (Lampan) leaves Extracts on Leukemic Cell

สุวรรณา เสมศรี^{1*} และ สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา²

¹คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

Suwanna Semsri^{1*} and Sureeporn Homvisasevongsa²

¹Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn, 10540

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

*Corresponding Author: ssemsri@gmail.com

Received: 18 February 2024 / Revised: 3 April 2024/ Accepted: 13 April 2024

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเอทานอลต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4, HL60 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT และฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยปฏิกิริยา Griess ในเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร LPS พบว่าสารสกัดใบลำพูที่ระดับความเข้มข้น 89.5 ± 6.45 $\mu\text{g/mL}$ มีความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด HL60 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนสารสกัดลำแพนที่ความเข้มข้นเท่ากับ 36.6 ± 5.38 $\mu\text{g/mL}$ มีความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้สารสกัดใบลำพูและลำแพนไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเลี้ยงชนิด Vero (309.8 ± 6.58 และ 210.4 ± 7.27 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ) นอกจากนี้สารสกัดใบลำพูที่ความเข้มข้น 26.5 ± 6.08 $\mu\text{g/mL}$ สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ร้อยละ 50 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดลำแพน (43.0 ± 6.06 $\mu\text{g/mL}$) ดังนั้นจากการทดสอบชี้ให้เห็นว่าสารสกัดใบลำพูและใบลำแพน มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4, HL60

คำสำคัญ: ต้านการอักเสบ ความเป็นพิษต่อเซลล์ ลำพู ลำแพน

Abstract

The objectives in this study were to study of anti-inflammatory and cytotoxicity activity of *Sonneratia caseolaris* (L) (Lamphu) and *Sonneratia ovata* (Lampan) leaf ethanol extract on K562, Molt4, HL60 leukemic cell line, and Vero cell. The cytotoxicity was measured by using MTT method whereas anti-inflammatory activity was investigated by using the Griess reaction in RAW 264.7 macrophage cell stimulated

with LPS. The result showed that *Sonneratia caseolaris* (L) leaf extract at the concentration of 89.5 ± 6.45 $\mu\text{g/mL}$ was significantly toxic to HL60 when compared to K562 and Molt cells ($p < 0.05$). The *Sonneratia ovata* leaf extract at the concentration of 36.6 ± 5.38 $\mu\text{g/mL}$ showed significantly high cytotoxicity (IC_{50}) effect on K562 cell. However, *Sonneratia caseolaris* (L) and *Sonneratia ovata* leaves extracts were not toxic to Vero cell (309.8 ± 6.58 and 210.4 ± 7.27 $\mu\text{g/mL}$, respectively). Moreover, *Sonneratia caseolaris* (L) leaf extract at a concentration of 26.5 ± 6.08 $\mu\text{g/mL}$ also significantly inhibited nitric oxide secretion by 50 percent when compared to *Sonneratia ovata* leaf extract (43.0 ± 6.06 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0.05$). Therefore, the all of results indicated that *Sonneratia caseolaris* (L) and *Sonneratia ovata* leaves extracts exhibited both cytotoxicity and anti-inflammatory activities on the K562, Molt4, HL60 leukemic cell lines.

Keyword: Anti-inflammation, Cytotoxicity, *Sonneratia caseolaris* (L.), *Sonneratia alba*

บทนำ

มะเร็งเป็นโรคร้ายที่ไม่ติดต่อ ที่เกิดจากความผิดปกติในการควบคุมการแบ่งตัวและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ สาเหตุอาจเกิดจากสารหรือสิ่งแปลกปลอมที่กระตุ้นหรือเหนี่ยวนำทำให้เกิดความผิดปกติในระดับสารพันธุกรรมส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต การแบ่งตัว และการแพร่กระจายที่ผิดปกติส่งผลทำให้ผู้ป่วยนั้น ๆ มีการทำงานที่เปลี่ยนแปลงไป และนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด [1] การรักษาโรคมะเร็งมีหลากหลายในปัจจุบันมีวิธีการรักษาที่หลากหลาย เช่น การใช้รังสีรักษา (radiotherapy) หรือเคมีบำบัด (chemotherapy) ซึ่งมีผลข้างเคียงกับคนไข้มาก นอกจากนี้ภาวะระบบภูมิคุ้มกันโรคที่ต่ำจะส่งผลทำให้มีการเติบโตและการกระจายของเซลล์มะเร็ง ซึ่งการรักษาด้วยการผ่าตัดและเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็งอาจมีผลทำลายระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยได้ และเกิดปัญหาที่ทำให้ภูมิคุ้มกันลดลงหรือบกพร่อง ซึ่งเป็นปัญหาหนึ่งที่ทำให้การรักษาผู้ป่วยมะเร็งไม่ประสบผลสำเร็จ โดยจะเห็นได้จากการกลับเป็นซ้ำของโรค นอกจากนี้ยังพบมีภาวะการอักเสบ (inflammation) ซึ่งเป็นกระบวนการของร่างกายที่เกิดขึ้นเพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่ทำให้เนื้อเยื่อในร่างกายได้รับบาดเจ็บ ถือเป็นกลไกที่สำคัญในการป้องกันสิ่งแปลกปลอมหรือสิ่งที่ทำให้เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายได้รับบาดเจ็บ ภาวะการเกิดการอักเสบมากเกินไปอาจทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อในร่างกาย มีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อ ความเจ็บป่วย หรืออาจทำให้เกิดโรคในกลุ่มโรคภูมิแพ้ตนเอง (autoimmune disease) เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) โรคข้อเสื่อมอักเสบ (osteoarthritis) โรคเอสแอลอี (systemic lupus erythematosus; SLE) นอกจากนี้กระบวนการอักเสบยังมีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงที่พบในกลุ่มโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง (cancer) ภาวะไขมันสะสมในผนังหลอดเลือด (atherosclerosis) โรคหลอดเลือดหัวใจ (ischemic heart disease) และกลุ่มโรคที่มีการเสื่อมของเนื้อเยื่อ (degenerative disease) เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) นอกจากนี้ยังมีการอักเสบที่เนื่องมาจากระบบภูมิคุ้มกันโดยเกิดขึ้นจากระบบภูมิคุ้มกันที่ติดตัวแต่กำเนิด (innate immunity) ร่วมกับสารที่หลั่งจากเซลล์และสารจากพลาสมา เช่น cytokine, prostaglandins, leukotriene, platelet activating factor (PAF), bradykinin, histamine, interferon (IFN) และ ระบบคอมพลีเมนต์ (complement system) ซึ่งกระบวนการอักเสบชนิดนี้เกิดจากการต่อต้านการติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรียของร่างกายกล่าวคือเมื่อแมคโครฟาจ (macrophage) นิวโทรฟิล (neutrophil) และ เซลล์เดนไดรติก (dendritic cell) กลืนกินไวรัสหรือแบคทีเรียแล้วจะมีการปล่อยโปรตีนของไวรัสหรือผนังเซลล์ของแบคทีเรียบางส่วนออกมาซึ่งโปรตีนเหล่านี้สามารถเหนี่ยวนำและกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันให้ตอบสนองทำให้เกิดการอักเสบด้วยการหลั่งสารสื่อกลางทางเคมี (chemical mediator) เช่น histamine, nitric oxide (NO), prostaglandin E_2 (PGE_2) และ leukotriene ออกมา [2]

ลำพูและลำแพนเป็นพืชที่ขึ้นตามป่าชายเลน มนุษย์ใช้ประโยชน์จากป่าชายเลนมาแต่โบราณพันธุ์ไม้ป่าชายเลนมีความสำคัญในการนำมาใช้เป็นสมุนไพรในการรักษาโรคต่าง ๆ [3-4] ลำพูและลำแพนเป็นพันธุ์ไม้ป่าชายเลนอยู่ในวงศ์ Sonneratiaceae สกุล Sonneratia ในประเทศไทยพบ 4 ชนิด ได้แก่ ลำพู (*Sonneratia caseolaris* (L.)) ลำพูทะเล



(*Sonneratia alba*) ลำแพน (*Sonneratia ovata*) และลำแพนหิน (*Sonneratia griffithii*) [5] ในตำรับยาพื้นบ้านจะใช้ส่วนต่าง ๆ ของลำพู เช่น รากใช้แก้ไข้เนื่องจากอาการอักเสบ ถอนพิษไข้ ขับปัสสาวะ ขับน้ำ ส่วนผลแก้ท้องร่วง ใบแก้ปวดท้อง แก้พิษปลาตูกแทง และเปลือกแก้โรคผิวหนัง แก้แผลเปื่อยพุพอง แก้โรคปว้าง [6] ส่วนลำพูทะเลและลำแพน ใช้ผลแก้ปวดบวม เคล็ดขัดยอก ขับพยาธิ ขับเสมหะ แก้ท้องผูก และห้ามเลือดที่แผล [7-8] นอกจากนี้ยังใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากจุลชีพต่าง ๆ สารจากลำพูและลำแพนมีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในหลากหลายด้าน เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antibacterial) [9-11] ฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (anti lipid peroxidation) ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (anticancer) [4] ฤทธิ์ปกป้องเซลล์ตับ (Hepatoprotective activity) [12] และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase [9] เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานสารประกอบที่พบในกลุ่มสารสกัดลำพูและลำแพน เป็นกลุ่มของสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) โดย Wu และคณะ [13] พบ oleanolic acid, β -sitosterol- β -D-glucopyranoside, (-)-R-nyasol, (-)-R-4'-O-methylnyasol, luteolin, luteolin 7-O- β -glucoside และ maslinic acid ส่วน Dev และคณะ [14] รายงานพบ ellagic acid, vanillic acid และ myricetin วิเคราะห์ด้วยหลักการแยกสารโดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) และยังมีรายงานพบ flavonoids, luteolin and luteolin 7-O- β -glucoside จากสารสกัดใบลำพู [15] ส่วน Wetwitayaklung และคณะ รายงานพบ maslinic acid, sterols และ triterpenoids [16]

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดใบลำพูและลำแพน และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 มะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังชนิด human chronic myeloid leukemia HL60 มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิด human acute promyelocytic leukemia Mlot 4 มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิด human acute lymphoblastic และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดใบลำพูและลำแพน

ส่วนของพืชที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอักเสบและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงในงานวิจัยนี้ใช้ส่วนที่เป็นใบของต้นลำพูและลำแพน ที่ขึ้นในป่าชายเลนบริเวณสถานตากอากาศบางปู จังหวัดสมุทรปราการ นำส่วนใบของพืชตัวอย่างมาล้างและตากแห้ง บดให้ละเอียดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% เป็นเวลานาน 5 วัน นำสารละลายที่สกัดได้ไปกรองและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย (rotary evaporator) แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) เก็บสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปทดสอบต่อไป คำนวณ ผลผลิตร้อยละ (%yield) ของสารสกัดแต่ละชนิด ตามสูตรดังนี้

$$\text{ผลผลิตร้อยละของสารสกัด (\%yield)} = \left(\frac{\text{น้ำหนักของสารที่ได้}}{\text{น้ำหนักของสารที่ใช้ในการสกัด}} \right) \times 100$$

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4, HL60 เซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero และเซลล์แมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 [17]

นำเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 (human chronic myeloid leukemia) เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 (human acute lymphoblastic leukemia) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด HL60 (human acute promyelocytic leukemia) มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มี 10% FBS ใน RPMI 1640 (Gibco/Invitrogen, USA) และมี L-glutamine 100 μ g/mL, penicillin 100 U/mL และ streptomycin 100 μ g/mL (Gibco/Invitrogen, USA) ส่วนเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero (African green monkey kidney cell) สำหรับการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพูและลำแพน และเซลล์แมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 นำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มีร้อยละ 10 FBS ใน DMEM (high glucose) (Gibco/Invitrogen, USA) และมี penicillin 100 U/mL และ

streptomycin 100 µg/mL (Gibco/Invitrogen, USA) สำหรับการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85

3. ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4, HL60 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero โดยวิธี MTT [3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-5 diphenyltetrazolium bromide] [18]

จำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงเริ่มต้นที่ใช้ในการทดสอบ คือ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 จำนวน 1×10^5 ชนิด Molt4 เท่ากับ 2×10^5 ชนิด HL 60 เท่ากับ 3×10^5 cells/mL ส่วนเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero เท่ากับ 5×10^4 cells/mL เพาะเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มี 10% FBS ใน RPMI 1640 ปริมาตร 100 µL/หลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และความชื้นสัมพัทธ์ 85% นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบลำพูและลำแพนที่ละลายในตัวทำละลายชนิด dimethylsulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นต่างๆ (0-500 µg/mL) ส่วนชุดควบคุม (vehicle control; VC) เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเฉพาะ dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich, Germany) โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO ในระบบเป็น 1% (ซึ่งเป็น %DMSO ที่ไม่มีผลกระทบต่อการทำงานและรูปร่างเซลล์) [19-20] เพาะเลี้ยงเซลล์นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายสี MTT ความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 20 µL แล้วบ่มต่ออีกนาน 2 ชั่วโมง ครบเวลา คำนวณค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 nm โดยในแต่ละความเข้มข้นทำ 3 หลุม และแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน คำนวณร้อยละของการมีชีวิต (% cell viability) เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงในหลุมควบคุม

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

4. ศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนโดยวัดการปริมาณไนตริกออกไซด์ (NO) ด้วย Griess reagent [21-22]

ความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเซลล์ เป็นดัชนีที่บ่งบอกปริมาณการผลิตไนตริกออกไซด์ เนื่องจากไนโตรเจนเป็นผลผลิตของการออกซิเดชันไนตริกออกไซด์ที่มีความเสถียร การวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนโตรเจนโดยปฏิกิริยา Griess นำเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 เพาะเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม โดยมีจำนวนเซลล์ เท่ากับ 1×10^5 cells/หลุม ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มี 10% FBS ใน DMEM (high glucose) (Gibco/Invitrogen, USA) ที่มี L-glutamine 100 µg/mL, penicillin 100 U/mL และ streptomycin 100 µg/mL (Gibco/Invitrogen, USA) และ บ่มเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% นาน 4-6 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสารสกัด (100 µg/mL) ในสภาวะที่มีหรือไม่มี 100 ng/mL ของ lipopolysaccharide (LPS) (Escherichia coli serotype 055: B5) (Sigma-Aldrich, Germany) ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์จำนวน 100 µL ผสมกับสารละลาย Griess [1% sulfanilamide และ 0.1% N-(1-naphthyl) ethylene-diaminedihydrochloride ใน 2.5% phosphoric] จำนวน 100 µL ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm หลังจากนั้นคำนวณค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเซลล์โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของโซเดียมไนไตรต์ (NaNO₂) ที่ความเข้มข้น 0-100 µM และคำนวณร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) การผลิตไนตริกออกไซด์ ของสารสกัดแต่ละส่วนในพืชแต่ละชนิด โดยเปรียบเทียบกับปริมาณไนตริกออกไซด์ในเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว ใช้สาร apigenin (Sigma-Aldrich, Germany) ความเข้มข้น 25 µM เป็นสารควบคุมแบบบวก และคำนวณร้อยละของการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ (%inhibition of NO production)



$$\text{ร้อยละของการยับยั้งการหลั่ง (\%inhibition)} = [(A-B) / (A-C)] \times 100$$

โดย A-C: NO₂ concentration (μM)
 A: LPS (+), sample (-)
 B: LPS (+), sample (+)
 C: LPS (-), sample (-)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองแสดงในรูปของ Mean $\pm$ SD และ one way ANOVA โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

ผลการวิจัย

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4, HL60 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero cell โดยวิธี MTT [3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-5 diphenyltetrazolium bromide]

การสกัดสารจากใบลำพูและใบลำแพนซึ่งเป็นพืชป่าชายเลน จังหวัดสมุทรปราการ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารต่าง ๆ ทั้งที่มีขี้และไม่ขี้จากใบลำพูและลำแพน ได้ร้อยละของผลผลิตของสารสกัด (%yield) คือ 11.24% และ 19.92% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4 และ HL60 นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบกับเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT พบว่าสารสกัดใบลำพูที่มีความเป็นพิษ (IC₅₀) หรือทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4 และ HL60 ตายไป 50% คือความเข้มข้นที่ 190.2 $\pm$ 4.40, 124.4 $\pm$ 7.38 และ 89.5 $\pm$ 6.45 μg/mL ตามลำดับ โดยความเข้มข้นของสารสกัดใบลำพูที่ 86.5 $\pm$ 6.45 μg/mL สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด HL60 ตายไป 50% ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 และ Molt4 (190.2 $\pm$ 4.40, 124.4 $\pm$ 7.38 μg/mL) (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 1) ส่วนสารสกัดใบลำแพนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4 และ HL60 มีระดับความเข้มข้นที่ 36.6 $\pm$ 5.38, 150.3 $\pm$ 4.59 และ 143.3 $\pm$ 5.49 μg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดใบลำแพนมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ที่ทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ตายไป 50% เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 และ HL60 ตายไป 50% (150.3 $\pm$ 4.59 และ 143.3 $\pm$ 5.49 μg/mL ตามลำดับ) (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 1) นอกจากนี้ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4 และ HL60 แต่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero (309.8 $\pm$ 6.58 และ 280.9 $\pm$ 7.27 μg/mL ตามลำดับ) (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลผลิตร้อยละของสารสกัด

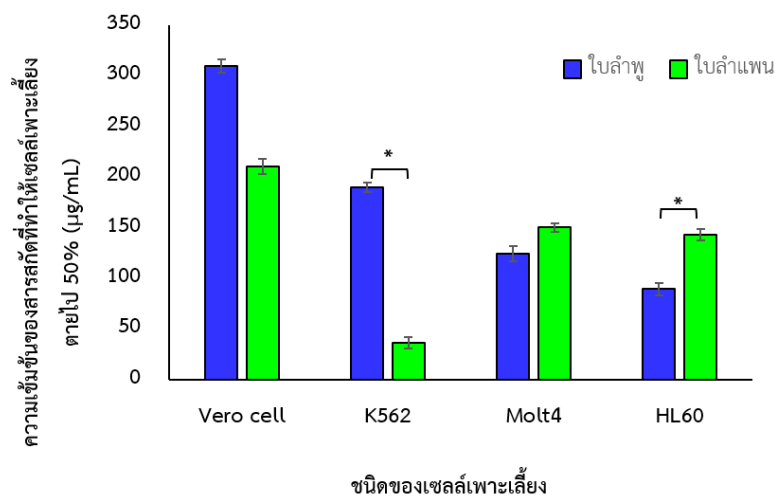
ชนิดของสารสกัดพืชป่าชายเลน	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้ในการสกัด	ผลผลิตร้อยละ
ใบลำพู	<i>Sonneratia caseolaris</i> (L)	ใบ	11.24
ใบลำแพน	<i>Sonneratia alba</i>	ใบ	19.92



ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4, HL60 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero

ชนิดของเซลล์เพาะเลี้ยงที่ทำการทดสอบ	ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (IC ₅₀) ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (Mean ± SD) (µg/mL)	
	ใบลำพู	ใบลำแพน
Vero cell	309.8 ± 6.58	280.9 ± 7.27
K562 cell	190.2 ± 4.40	36.6 ± 5.38*
Molt4 cell	124.4 ± 7.38	150.3 ± 4.59
HL60 cell	89.5 ± 6.45*	143.3 ± 5.49

*แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)



*แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)

ภาพที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดใบลำพู (■) และใบลำแพน (■) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, Molt4, HL60 และเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero โดยวิธี MTT

การศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนโดยวัดการปริมาณไนตริกออกไซด์ด้วยปฏิกิริยา Griess

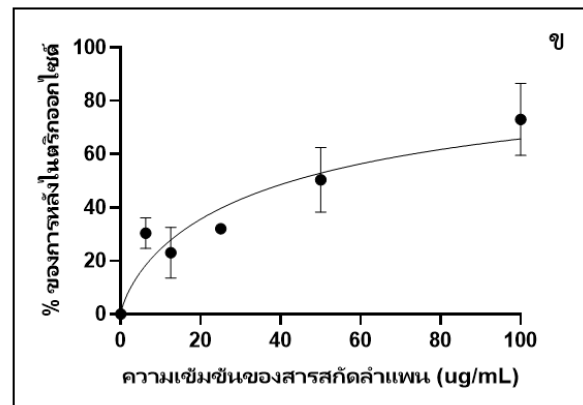
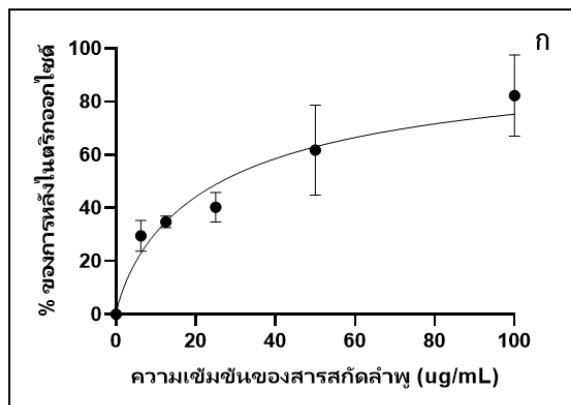
การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนโดยการวัดปริมาณไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ด้วยปฏิกิริยา Griess พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนที่สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% คือ 26.5 ± 6.08 และ 43.0 ± 6.06 µg/mL โดยมีอัตราการมีชีวิตรอดเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 มากกว่า 80% ทั้งนี้พบว่าสารสกัดใบลำพูมีฤทธิ์ในการด้านการอักเสบดีกว่าสารสกัดใบลำแพน เนื่องจากใช้ความเข้มข้นเพียง 26.5 ± 6.08 µg/mL ซึ่งน้อยกว่าสารสกัดใบลำแพน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 2 ถึง ภาพที่ 3)



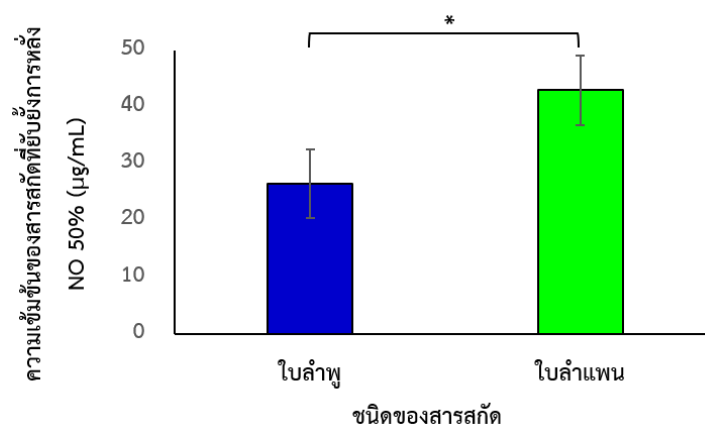
ตารางที่ 3ฤทธิ์ของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนต่อการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ 50% ในเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS

สารสกัดที่ทำการทดสอบ	ความเข้มข้นของสารสกัด ที่สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ 50% ($\mu\text{g/mL}$; Mean $\pm$ SD)	ร้อยละของการมีชีวิตรอด
ใบลำพู	26.5 $\pm$ 6.08*	> 80
ใบลำแพน	43.0 $\pm$ 6.06	> 80
25 μM Apigenin (ชุดควบคุมเชิงบวก) ยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์	89% $\pm$ 2.41	> 80

*แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)



ภาพที่ 2 ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดใบลำพูและใบลำแพน โดยวัดปริมาณการลดลงของไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 ด้วยการกระตุ้นด้วย LPS ด้วยปฏิกิริยา Greiss ที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งไนตริกออกไซด์ได้ 50% ของเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 ด้วยการกระตุ้นด้วย LPS และเลี้ยงร่วมกับสารสกัด (ก) ใบลำพู และ (ข) ใบลำแพน นาน 48 ชั่วโมง



*แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)

ภาพที่ 3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดใบลำพู (■) และใบลำแพน (■) โดยวัดปริมาณการลดลงของไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 ด้วยการกระตุ้นด้วย LPS ด้วยปฏิกิริยา Greiss ที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการไนตริกออกไซด์ได้ 50% ของเซลล์แมคโครฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW 264.7 ด้วยการกระตุ้นด้วย LPS และเลี้ยงร่วมกับสารสกัดใบลำพูและใบลำแพน นาน 48 ชั่วโมง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ต้นลำพูและลำแพนเป็นพืชชนิดหนึ่งในกลุ่มพรรณไม้ในป่าชายเลนที่มีอยู่ในตำรายาแผนโบราณ เปลือกต้นลำพูเป็นยาในกลุ่มรสรุค ขับเมือกในลำไส้ แก้อาการท้องอืด แน่นท้อง ขับพยาธิ แก้แผลเปื่อยพุพอง ทำน้ำกระสายยาแก้โรคปว้าง ส่วนรากใช้แก้ไข้เนื่องจาก การอักเสบ ถอนพิษไข้ ขับปัสสาวะ ขับนิ่ว [6] จากการศึกษาพบว่าสารสกัดใบลำพูที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเอทานอล 95% แสดงคุณสมบัติการมีสารต้านมะเร็งเม็ดเลือด โดยสารสกัดใบลำพูสามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด HL60 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิด human acute promyelocytic leukemia ตายไป 50% (IC₅₀) ที่ระดับความเข้มข้น 89.5 ± 6.45 µg/mL เป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt 4 (เป็น human acute lymphoblastic) และ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว เพาะเลี้ยงชนิด K562 ซึ่งเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรัง ชนิด human chronic myeloid leukemia ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้น 124.4 ± 7.38 และ 190.2 ± 4.40 µg/mL ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดใบลำพูมีคุณสมบัติในการต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด human acute promyelocytic leukemia ได้ดีกว่าเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด human acute lymphoblastic และ ชนิด human chronic myeloid leukemia คิดเป็น 1.39 และ 2.13 เท่า ตามลำดับ ส่วนสารสกัดใบลำแพนที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเอทานอล 95% แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ดีที่สุดโดยใช้ความเข้มข้น เพียง 36.6 ± 5.38 µg/mL ในการทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ตายไป 50% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด Molt4 (150.3 ± 4.59 µg/mL) และ HL60 (143.3 ± 5.49 µg/mL) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งคิดเป็น 4.11 และ 3.92 เท่า นอกจากนี้การวิจัยยังพบว่าสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero (309.8 ± 6.58 และ 280.9 ± 7.27 µg/mL ตามลำดับ) สารสกัดใบลำพูแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero คิดเป็น 3.46 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด HL60 (89.5 ± 6.45 µg/mL) ส่วนสารสกัดใบลำแพนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero เป็น 7.67 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง K562 (36.6 ± 5.38 µg/mL) มีรายงานว่าสารสำคัญของลำแพนคือ (7S,8R)-dehydroconiferyl alcohol, (7S,8R)-5-methoxydehydroconiferyl alcohol, sonnerphenolic C มีความเป็นพิษ (IC₅₀) ต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงชนิด MCF-7 (human breast cancer) ที่ความเข้มข้น 146.9 ± 9.0, 114.5 ± 7.2, และ 112.8 ± 9.4 µM ตามลำดับ และไม่มี ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด PHF (primary human fibroblast) [23] และสารสกัดบริสุทธิ์ (-)-(R)-nyasol, (-)-(R)-4'-O-methylnyasol และ maslinic acid ที่แยกมาจากการสกัดผลของลำพูและลำแพน แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษปาน กลางต่อเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด rat glioma C-6 [24] นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่ามีพืชพันธุ์ไม้ในวงศ์ (Rhizophora) มีฤทธิ์และ ประสิทธิภาพในการต้านมะเร็ง (anticancer) โดยมีสารประกอบที่สำคัญ คือ แอนทราควิโนน (anthraquinones) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และอัลคาลอยด์ (alkaloids) [25] และมีผลการวิจัยของ Tian และคณะ [26] รายงานถึงกลไกใน การต้านมะเร็งของสารประกอบแอนทราควิโนน คือ เป้าหมายของสารประกอบแอนทราควิโนน คือ DNA ซึ่งสารประกอบ แอนทราควิโนนบางชนิดถูกนำมาใช้ในการรักษามะเร็งโดยมีเป้าหมายในการลดและด้านความเสียหายของ DNA ซึ่งเป็นสาเหตุ ที่จะทำให้เกิดจากเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ยังลดการเกิดอนุมูลอิสระ ROS และแอนทราควิโนนยังทำให้เกิดการตายของ เซลล์มะเร็งโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดลดการทำงานของ MDM2, AKT และแอนทราควิโนนยังมีแสดง คุณสมบัติการเป็นที่ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ (antiproliferative) ในเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงกลุ่ม multiple drug-resistant cancer cell lines ส่วนสารประกอบฟลาโวนอยด์ มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับกลไกการเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ของ เซลล์มะเร็ง [27]

นอกจากนี้การศึกษายังพบว่าสารสกัดใบลำพูและใบลำแพนยังแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดโดยการวัดการ ลดลงของปริมาณไนตริกออกไซด์ ด้วยปฏิกิริยา Griess โดยใช้ RAW 264.7 (macrophage cell line) เป็นเซลล์ต้นแบบ และ กระตุ้นด้วย LPS ให้หลั่งไนตริกออกไซด์ จากการทดสอบพบว่าสารสกัดใบลำพูที่มีความเข้มข้น 26.5 ± 6.08 µg/mL และสาร



สกัดใบลำแพนใช้ความเข้มข้นที่ $43.0 \pm 6.06 \mu\text{g/mL}$ สามารถยับยั้งการการผลิตไนตริกออกไซด์ 50% ทั้งนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดใบลำแพนที่สามารถยับยั้งการการผลิตไนตริกออกไซด์ 50% น้อยกว่าสารสกัดใบลำแพนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หรือประมาณ 1.62 เท่า มีรายงานสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์หลายชนิดส่งผลโดยตรงต่อเอนไซม์ในกระบวนการอักเสบ และฟลาโวนอยด์บางชนิดสามารถยับยั้งการเหนี่ยวนำการยึดเกาะโมเลกุล (adhesion molecule) เช่น นิวโทรฟิลในเลือดซึ่งกลไกที่สำคัญต่อกระบวนการอักเสบ [28-29] มีรายงานว่าสาร 27-[(E)-p-coumaroyloxy]canophylllic acid, 27-[(Z)-p-coumaroyloxy]canophylllic acid, 27-[(Z)-p-coumaroyloxy]friedelin-28-carboxylic acid, 3-oxo-friedelin-28-oic acid ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ ที่แยกมาจากสารสกัดใบสารภีทะเลหรือกระทิง (*Calophyllum inophyllum*) สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ โดยผ่านการยับยั้ง pro-inflammatory เช่น NO, IL-1 β , and TNF- α และยังมีรายงานว่า E-coumaroyl triterpenoid สามารถยับยั้งการทำงานของ iNOS ด้วย [30] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากลูกลำพูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 96% ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 mg/Kg มีฤทธิ์การต้านการอักเสบโดยศึกษาในหนู (mice) ที่เหนี่ยวนำให้เกิดอู้งเท้าบวม (paw edema) แบบตามความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้น (dose-dependent manner) [31] และยังมีรายงานสารสกัดด้วยอะซีโตน 70% จากลำพู (*Sonneratia caseolaris*) ลำพูทะเล (*Sonneratia alba*) และลำแพน (*Sonneratia ovata*) มีฤทธิ์ในด้านแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Bacillus subtilis* และ แกรมลบ คือ *Aeromonas hydrophila* ได้ดีที่สุด [32] นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าสารสกัดจากลูกลำพูมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยการวัดปริมาณฟีนอล (phenolics) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ แทนนิน (tannins) ด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 122 mg GAE/gm, 613 mg QE/gm และ 30 mg GAE/gm [31] อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารสกัดลำแพนก็แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นกันโดยมีค่า IC₅₀ 4.73 และ 2.00 $\mu\text{g/mL}$ ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ [33] จากผลการศึกษาจะนำไปสู่การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดเนื่องจากยารักษาเมะเร็งที่ดีควรจะมีฤทธิ์ทำลายเซลล์เมะเร็งได้ดีและควรต้องมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบได้ดีด้วย และต้องไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

ดังนั้นจากข้อมูลวิจัยเบื้องต้นนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดเอทานอลลำพูมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์เมะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด HL60 ได้ดีที่สุด และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบสูงด้วย ส่วนสารสกัดลำแพนมีความเป็นพิษต่อมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์เมะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ดีที่สุด แต่มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบน้อยกว่าสารสกัดใบลำพู ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะสามารถนำไปสู่การต่อยอดในการศึกษาการแยกสารบริสุทธิ์ การศึกษาโครงสร้างของสารที่ออกฤทธิ์ เพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ทางยา แพทย์ อาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังจะเป็นข้อมูลพื้นฐานทางห้องปฏิบัติการในการสนับสนุนการพัฒนาตำรับครีมสมุนไพรใบลำพูและลำแพนในบรรเทาอาการอักเสบ หรือเป็นข้อมูลเบื้องต้นในหาสารออกฤทธิ์ต้านเมะเร็งและต้านการอักเสบที่ได้จากพืชป่าชายเลน เพื่อพัฒนาเป็นยาในรักษาเมะเร็งร่วมกับการต้านการอักเสบต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณและอุทิศให้อาจารย์เบญจวรรณ สมบูรณ์สุข โรงเรียนแพทย์แผนโบราณวัดพระเชตุพนวิมลมังคลาราม และโรงเรียนแพทย์แผนไทย ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของพืช และขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติที่สนับสนุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Kantarjian H, Melo JV, Tura S, Giralt S, Talpaz M. Chronic myelogenous leukemia: disease biology and current and future therapeutic strategies. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2000;1:90-109.
2. Radi ZA, Kehrli ME, Jr., Ackermann MR. Cell adhesion molecules, leukocyte trafficking, and strategies to reduce leukocyte infiltration. J Vet Intern Med 2001;15(6):516-29.



3. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กองอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน. คู่มือความรู้เรื่องป่าชายเลน. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ: บริษัท พลอย มีเดีย จำกัด; 2564.
4. Bandaranayake WM. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wetl Ecol Manag* 2002;10:421–52.
5. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. คลังความรู้ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง [อินเทอร์เน็ต]. 2556 [เข้าถึงเมื่อ 14 ม.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: https://km.dmcr.go.th/c_11/d_3072
6. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. ในสารานุกรมสมุนไพร: รวมหลักเภสัชกรรมไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์; 2540.
7. สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. ความหลากหลายทางชีวภาพในป่าชายเลนฝั่งอ่าวไทย และอันดามันตอนล่าง. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ; 2553.
8. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. สมุนไพรในป่าชายเลน. ส่วนส่งเสริมและพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลน [อินเทอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 6 ม.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก <https://dmcrth.dmcr.go.th/manpro/detail/11694/>
9. ธวัชชัย แพชมัด, เกษร จันทศิริ, จุรี เจริญธีรบุรณ์. การพัฒนาสารสกัดจากลำพูและการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อใช้ทางยาและเครื่องสำอาง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพฯ; 2555
10. Yompakdee C, Thunyaharn S, Phaechamud T. Bactericidal activity of methanol extracts of crabapple mangrove tree (*Sonneratia caseolaris* Linn.) against multi-drug resistant pathogens. *Indian J Pharm Sci* 2012;74(3):230–6.
11. Haq I, Hossain ABMS, Khandaker MM, Merican AF, Faruq G, Boyce AN, et al., Antioxidant and antibacterial activities of different extracts and fractions of a mangrove plant *Sonneratia alba*. *Int J Agric Biol* 2014;14(4):707-14.
12. Charoenteeraboon J, Wetwitayaklung P, Limmatvapirat C, Phaechamud T. Hepatoprotective activity from various parts of *Sonneratia caseolaris*. *Planta Med* 2007;73(9):561.
13. Wu S-B, Wen Y, Li X-W, Zhao Y, Zhao Z, Hu J-F. Chemical constituents from the fruits of *Sonneratia caseolaris* and *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae). *Biochem Syst Ecol* 2009;37(1):1–5.
14. Dev S, Acharyya RN, Akter S, Al Bari MA, Asma K, Hossain H, et al., Toxicological screening and evaluation of anti-allergic and anti-hyperglycemic potential of *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. Fruits. *Clin phytosci* 2021;7(1):1–13.
15. Sadhu SK, Ahmed F, Ohtsuki T, Ishibashi M. Flavonoids from *Sonneratia caseolaris*. *J Nat Med* 2006;60(3):264-5.
16. Wetwitayaklung P, Limmatvapirat C, Phaechamud T. Antioxidant and anticholinesterase activities in various parts of *Sonneratia caseolaris* (L.). *Indian J Pharm Sci* 2013;75(6):649–56.
17. ฉัตรทริกา อภิชาติวรกิจ, ไอลตา กลั่นสุข, สุวรรณ เสมศรี, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา. ความเป็นพิษของสารสกัดตะไคร้ต้นต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง. ว วิทย เทคโนโลยี หัวใจเฉลิมพระเกียรติ 2558;1(1):60-8.
18. สุวรรณ เสมศรี, นันทิกานต์ ยงพิศาลภพ, นวพร คงด้วง, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา, วิชาญ จันทรวินยานุชิต. ฤทธิ์ของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักขวยต่อการต้านมะเร็งและการกลืนกิน สิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ. ว วิทย เทคโนโลยี หัวใจเฉลิมพระเกียรติ 2561;4(2):40-9.
19. Yuan C, Gao Ju, Guo Ji, Bai L, Marshall C, Cai Z, et al. Dimethyl Sulfoxide Damages Mitochondrial Integrity and Membrane Potential in Cultured Astrocytes. *PLoS ONE* 2014;9(9):e107447.



20. de Abreu Costa L, Henrique Fernandes Ottoni M, Dos Santos MG, Meireles AB, Gomes de Almeida V, de Fátima Pereira W. et al. Dimethyl sulfoxide (DMSO) decreases cell proliferation and TNF- α , IFN- γ , and IL-2 cytokines production in cultures of peripheral blood lymphocytes. *Molecules* 2017;22(11):1789.
21. สุวรรณ เสมศรี, โน้ต ชาติลา จาสีล, สุธี สิงห์สนธิ์, สุริย์พร หอมวิเศษวงศา, วิชาญ จันทน์วิทยานุกิต.ฤทธิ์ต้านการอักเสบและการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของสารสกัดใบกะเม็ง ใบสาบเสือ และใบบัวบก. ในเอกสารการประชุมวิชาการระดับชาติวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 7 วันที่ 7 มิถุนายน 2561 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต ปทุมธานี; 2561. หน้า 974-82.
22. Tuntipipat S, Muangnoi C, Chingsuwanrote P, Parengam M, Chantravisut P, Charoenkiatkul S, et al., Anti-inflammatory activities of red curry paste extract on lipopolysaccharide-activated murine macrophage cell line. *Nutrition* 2011;27(4):479-87.
23. Nguyen THT, Pham HVT, Pham NKT, Quach NDP, Pudhom K, Hansen PE, et al. Chemical constituents from *Sonneratia ovata* Backer and their *in vitro* cytotoxicity and acetylcholinesterase inhibitory activities. *Bioorg Med Chem Lett* 2015;25(11):2366-71.
24. Wu SB, Wen Y, Li XW, Zhao Y, Zhao Z, Hu JF. Chemical constituents from the fruits of *Sonneratia caseolaris* and *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae). *Biochem Syst Ecol* 2009;37(1):1-5.
25. Abou Assi R, Darwis Y, Abdulbaqi IM, Khan AA, Vuanghao L. Laghari MH. Morinda citrifolia (Noni): A comprehensive review on its industrial uses pharmacological activities, and clinical trials. *Arab J Chem* 2017;10(5):691–707.
26. Tian W, Wang C, Li D, Hou H. Novel anthraquinone compounds as anticancer agents and their potential mechanism. *Future Med Chem* 2020;12(7):627-44.
27. Chahar MK, Sharma N, Dobhal MP, Joshi YC. Flavonoids: A versatile source of anticancer drugs. *Pharmacogn Rev* 2011;5(9):1-12.
28. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev* 2000;52(4):673-751.
29. Genilar LA, Kurniawaty E, Mohd Mokhtar RA, Audah KA. Mangroves and Their Medicinal Benefit: A Mini Review. *Ann Rom Soc Cell Biol* 2021;25(4):695-709.
30. Van Thanh N, Jang HJ, Vinh LB, Linh KT, Huong PT, Cuong NX, et al. Chemical constituents from Vietnamese mangrove *Calophyllum inophyllum* and their anti-inflammatory effects. *Bioorg Chem* 2019;88:102921.
31. Kundu P, Debnath SL, Devnath HS, Saha L, Sadhu SK. Analgesic, Anti-inflammatory, Antipyretic, and In Silico Measurements of *Sonneratia caseolaris* (L.) Fruits from Sundarbans, Bangladesh. *Biomed Res Int* 2022;2022:1-16.
32. พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์, ภัทร พุทธิเมธากุล. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากลำพู ลำพูทะเล และลำแพน. ในเอกสารการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55 เล่ม 1 วันที่ 31 มกราคม – 3 กุมภาพันธ์ 2560. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ; 2560.
33. Laili K, Fatati N, Inneke PF, Setyo PA, Mardi S, Taslim E, Sri F. In vitro antioxidant activity of *Sonneratia ovata* Backer extract. *Res J Chem Environ* 2018;22(2):146-50.