นิพนธ์ต้นฉบับ/ **Original article**

Journal of Medicine and Health Sciences (Vol. 12 No. 2 August 2005)

การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง แก้วเจ้าจอม และการเวก

Cytotoxicity of crude extracts from *Allamanda cathartica, Guaiacum officinale and Artabotrys siamensis* to some cancer cells

วัลยา อุทัยสาง และ ไพศาล ขาวสัก
Wanlaya Uthaisang and Paisarn Khawsak

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากพืช โดยมุ่งเน้นพืชที่เพาะปลูกและดูแลง่าย รวมทั้งมีผลการออกฤทธิ์ในเบื้องต้นที่น่าสนใจ ซึ่งได้คัดเลือกพืชสามชนิด ได้แก่ ต้นบานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica*) ต้นแก้วเจ้าจอม (*Guaiacum officinale*) และต้นการเวก (*Artabotrys siamensis*) สกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย hexane และนำมาทดสอบความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งสามชนิด คือ เซลล์มะเร็งลำไส้ (COLO 205) เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) และเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ด้วยวิธี MTT assay ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากใบบานบุรีเหลืองมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุด มีค่า IC_{50} ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งปากมดลูก และเซลล์มะเร็งตับที่ 41.3 227.6 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือก้านบานบุรีเหลือง ในขณะที่ตัวอย่างอื่นๆ ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง นอกจากนั้นสารสกัดหยาบจากใบบานบุรีเหลืองทำให้เซลล์ตาย โดยมีลักษณะที่คล้ายกับเซลล์ที่ตายด้วยกระบวนการ apoptosis คือมีการหดตัวของเซลล์ บางเซลล์มีลักษณะที่แตกออกเป็นชิ้นส่วนเล็กๆ และมีการโป่งพองของเยื่อหุ้มเซลล์ จากข้อมูลที่ได้นี้จึงเป็นที่น่าสนใจว่าสารสกัดหยาบจากใบบานบุรีเหลืองนี้จะทำให้เซลล์มะเร็งตายด้วยกระบวนการ apoptosis จริงหรือไม่ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการศึกษากลไกการตายต่อไป

คำสำคัญ: บานบุรีเหลือง ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง มะเร็งลำไส้ มะเร็งปากมดลูก มะเร็งตับ

Journal of Medicine and Health Sciences
Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University
Vol. 12 No. 2 August 2005

ABSTRACT

This study is mainly focused on the cytotoxicity test of hexane extracts from Banbureeleung (*Allamanda cathartica*), Kaowjowjom (*Guaiacum officinale*), and Karawek (*Artabotrys siamensis*). The MTT assay was performed in 3 cancer cell types, colorectal carcinoma (COLO-205), cervical carcinoma (Hela) and hepatoma (HepG2). Banbureeleung leaves had highest cytotoxic efficiency with IC_{50} at 41.3, 227.6 and 600 μg/ml in COLO-205, Hela and HepG2, respectively. Banbureeleung stalk had less activity, while other samples showed no cytotoxicity for three cell types. The morphological change can be obviously observed that both cells size and the appearance when crude extract of Banbureeleung leaves was added in culture media. They were shrunken and formed blebbing structure at the plasma membrane. These characteristics are being recognized as the general appearance of apoptosis or program cell death. The further study on the mechanism of cell death inducing by Banbureeleung leaves should be extensive investigated.

Keywords : *Allamanda cathartica* / cytotoxicity / colorectal carcinoma / cervical carcinoma / hepatoma

บทนำ

ปัจจุบันโรคมะเร็งยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญมากทั้งระดับประเทศและระดับโลก เนื่องจากเป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ การค้นคว้าหายาต้านมะเร็งใหม่ๆ จึงได้รับความสนใจจากนักวิจัยมากมาย เนื่องจากยาต้านมะเร็งที่มีอยู่ในขณะนี้มีฤทธิ์ข้างเคียงที่รุนแรง คือมีการทำลายเซลล์ปกติด้วย งานวิจัยในระยะหลังๆ จึงให้ความสนใจสารสกัดจากธรรมชาติโดยเฉพาะพืชในตระกูลต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ฆ่าเซลล์มะเร็งได้และมีผลกระทบต่อเซลล์ปกติน้อยมาก [1-5]

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากพืชที่หาได้ทั่วไป เพาะปลูกและดูแลง่าย โดยคัดเลือกพืชที่มีผลการออกฤทธิ์เบื้องต้นที่น่าสนใจจำนวนสามชนิด ได้แก่ ต้นบานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica*) อยู่ในวงศ์ Apocynaceae เป็นไม้พุ่มกึ่งเลื้อย มีฤทธิ์ฆ่ารา (fungal cytotoxicity) [6] และฆ่าหนอนพยาธิ (antinematodal activity) [7] ต้นแก้วเจ้าจอม(*Guaiacum officinale*) อยู่ในวงศ์ Zygophyllaceae เป็นไม้ต้นมีผลยับยั้งการอักเสบ (anti-inflammation) [8] และมีผลฆ่าสัตว์ตระกูลหอย (molluscicide) [9] และต้นการเวก (*Artabotrys siamensis*) อยู่ในวงศ์ Annonaceae เป็นไม้เลื้อยยืนต้น ผลเบื้องต้นมีฤทธิ์เป็น ATPase (Na^+/K^+) inhibitor [10] พืชทั้งสามชนิดนี้ยังไม่มีรายงานฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็ง โครงการวิจัยนี้จึงเริ่มต้นด้วยการนำสารสกัดหยาบจากก้านและใบของพืชมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งสามชนิดคือ เซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งปากมดลูก และเซลล์มะเร็งตับ ซึ่งเป็นมะเร็งประเภทที่พบได้บ่อยในประเทศไทย โดยมุ่งหวังว่าจะพบสารที่มีฤทธิ์น่าสนใจเพื่อการพัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินงานวิจัย

วัสดุและสารเคมี

พืชที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้สามชนิดคือ บานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica*) และแก้วเจ้าจอม (*Guaiacum officinale*) ใช้ส่วนใบและก้าน สำหรับการเวก (*Artabotrys siamensis*) ใช้เฉพาะส่วนของใบ เนื่องจากส่วนของก้านมีน้ำยางค่อนข้างมาก ทำให้ยากต่อการสกัด โดยพืชทั้งสามชนิดได้ทำการเก็บจากสวนสาธารณะในกรุงเทพ

Hexane(Labscan,USA) Dimethysulfoxide (Riedel, USA) MTT (Sigma, USA) Doxorubicin hydrochloride (Boryung Pharmaceutical, Korea) Dulbecco's Modified Eagle และ RPMI 1640 (Gibco, USA) Trypsin-EDTA (Gibco, USA) Pennisillin-streptomycin (Gibco, USA) และ Fetal bovine serum (Hyclone, USA)

วิธีการทดลอง

1.การเตรียมสารสกัดหยาบ [11 - 12]

นำส่วนของพืชที่ต้องการเตรียมเป็นสารสกัดหยาบมาล้างให้สะอาด อบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 80 °ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการปั่นให้ละเอียด แล้วทำการชั่งน้ำหนักเก็บไว้ นำพืชที่อบแห้งไปสกัดด้วยสารละลาย hexane เป็นเวลานาน 10 วัน กรองส่วนใสและทำให้เข้มข้นโดยการระเหย hexane ออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ จะได้สารสกัดหยาบ hexane นำไปชั่งน้ำหนักสารที่ได้อีกครั้งหนึ่ง และแยกสารบางส่วนไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งต่อไป

2. การเลี้ยงเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งที่ใช้ตรวจสอบคือ เซลล์มะเร็งลำไส้ (COLO 205) เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) และเซลล์มะเร็งตับ(HepG2)ได้ทำการหาจำนวนเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม โดยเซลล์มะเร็งปากมดลูก และเซลล์มะเร็งตับ ใช้ปริมาณเซลล์ตั้งต้นที่ 10,000 เซลล์เลี้ยงในอาหารชนิด Dulbecco's Modified Eagle ผสมด้วย Fetal bovine serum 10 % สำหรับเซลล์มะเร็งลำไส้ที่มีขนาดเล็กกว่าใช้ปริมาณเซลล์ตั้งต้นที่ 20,000 เซลล์ในอาหารชนิด RPMI 1640 ผสมด้วย Fetal bovine serum 10 % Hepes 10 มิลลิโมลาร์ Glucose 4.5 กรัมต่อลิตร และ Sodium pyruvate 1 มิลลิโมลาร์ เซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด เลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°ซ. และ CO_2 5 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเริ่มทดสอบยา

3.การทดสอบความเป็นพิษ [13]

นำยาต้านมะเร็งมาตรฐาน doxorubicin หรือสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมในอาหารเลี้ยงเซลล์ เติมลงในหลุมเซลล์มะเร็งที่เตรียมไว้ โดยมีเซลล์มะเร็งที่เติมเฉพาะตัวทำละลายยาในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นกลุ่มควบคุม ทำการเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°ซ. และ CO_2 5 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเปลี่ยนอาหารเดิมที่มียาอยู่เป็นอาหารใหม่ที่ผสมด้วยสาร 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrasolium bromide (MTT) ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในแต่ละหลุมเซลล์ และเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสาร MTT ทิ้ง แล้วเติมด้วยสารละลาย dimethysulfoxide (DMSO) จำนวน 150 ไมโครลิตร ทุกหลุมเซลล์ ทำการวัดสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง ELISA plate reader ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยการทดสอบยาจะทำซ้ำกันสองครั้งในแต่ละการทดลอง และทำทั้งสิ้นสามการทดลอง เพื่อวิเคราะห์ค่าความแปรผันทางสถิติด้วย standard deviation (SD) และวิเคราะห์ค่า inhibition concentration ที่ 50 % (IC_{50}) ด้วยโปรแกรม prism

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. การสกัดสารสกัดหยาบ

สารสกัดหยาบจากใบและก้านของพืชทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะแสดงดังตารางที่ 1

Journal of Medicine and Health Sciences
Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University
Vol. 12 No. 2 August 2005

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักแห้งของพืชตัวอย่างชนิดต่างๆ น้ำหนักและลักษณะของสารสกัดหยาบ

พืชตัวอย่าง	น้ำหนักพืชแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	ลักษณะสารสกัดหยาบ
1.ใบบานบุรีเหลือง	36.38	1.68	ของเหลวหนืด สีน้ำตาลเข้ม
2.ก้านบานบุรีเหลือง	62.34	0.74	ของเหลวหนืด สีน้ำตาลเข้ม
3.ใบแก้วเจ้าจอม	88.40	1.76	ของเหลวหนืดสีเขียวอมเหลือง
4.ก้านแก้วเจ้าจอม	91.50	0.36	ของเหลวหนืด สีน้ำตาลเหลือง
5.ใบการเวก	77.04	0.83	ของเหลวหนืด สีน้ำตาลดำเข้ม

2. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

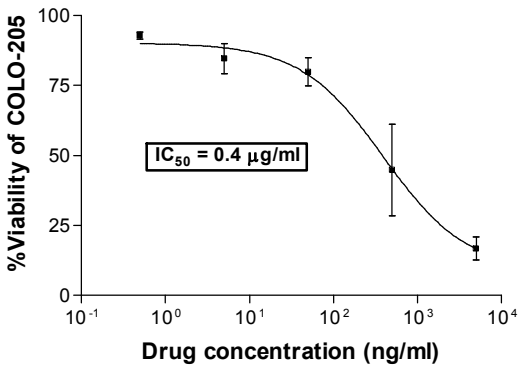
สารสกัดหยาบจากส่วนของใบบานบุรีเหลืองจะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเซลล์มะเร็งทั้งสามชนิดได้ดีที่สุด รองลงมาคือก้านบานบุรีเหลือง ในขณะที่สารสกัดจากใบการเวกและสารสกัดจากใบและก้านของต้นแก้วเจ้าจอมแทบจะไม่มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งทั้งสามชนิดเลย เปรียบเทียบกับผลของยาต้านมะเร็งมาตรฐาน(รูปที่ 1-4) จากนั้นได้ทำการทดสอบใหม่อีกครั้งหนึ่งเพื่อหาค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบที่ได้จากใบบานบุรีเหลือง (รูปที่ 5) และก้านบานบุรีเหลือง (รูปที่ 6) โดยเลือกเฉพาะช่วงความเข้มข้นที่เห็นฤทธิ์การเป็นพิษ คือ 31.25 62.50 125 250 500 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อให้ได้ค่า IC_{50} ที่มีความละเอียดมากขึ้นแสดงไว้ในตารางที่ 2 เซลล์มะเร็งที่เลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบจากใบและก้านของต้นบานบุรีเหลืองมีลักษณะภายนอกที่เปลี่ยนแปลงไปดังแสดงไว้ในรูปที่ 7 คือ มีลักษณะของเยื่อหุ้มเซลล์ที่โป่งพองออก (membrane blebbing) มีการหดตัวของเซลล์ และมีบางเซลล์ที่มีลักษณะแตกออกเป็นส่วนของเซลล์เล็กๆ

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

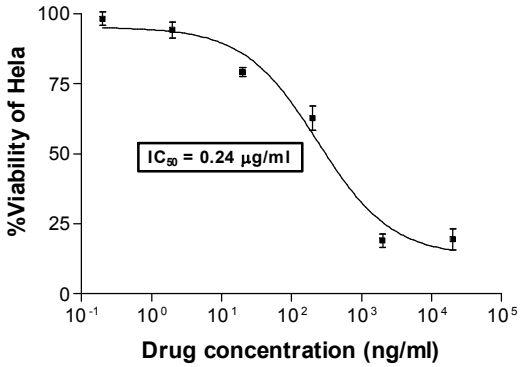
วิธีการที่ใช้ในการทดลองสำหรับการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งนั้น ใช้หลักการของวิธี MTT assay ซึ่งสาร MTT จะถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบสีม่วง formazan โดยเอ็นไซม์ mitochondrial dehydrogenase ที่ยังสามารถทำงานได้เฉพาะในเซลล์ที่มีชีวิต[14] สารประกอบสีม่วงสามารถละลายได้ใน DMSOและค่าความเข้มของสีที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ โดยใช้ความเข้มข้นของยาหรือสารสกัดที่ทำให้เซลล์มะเร็งรอดชีวิตได้ 50 % (IC_{50}) เป็นค่าเปรียบเทียบความแรงของยาหรือสารสกัดในการฆ่าเซลล์มะเร็ง

พืชที่นำมาทดสอบการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้คัดเลือกจากพืชที่ปลูกและดูแลได้ง่าย เนื่องจากหากสามารถตรวจพบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของพืชเหล่านี้ จะมีความสะดวกในการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดสารบริสุทธิ์ที่มักต้องใช้ปริมาณมากๆ และเมื่อศึกษาจากฐานข้อมูลสมุนไพรในประเทศไทย จึงคัดเลือกพืช 3 ชนิด สำหรับการศึกษาครั้งนี้ คือ บานบุรีเหลือง แก้วเจ้าจอม และการเวก เนื่องจาก พืชเหล่านี้มีผลเบื้องต้นที่น่าสนใจโดยออกฤทธิ์ในการต้านพยาธิ ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ เป็นต้น ซึ่งอาจมีความเป็นไปได้ที่จะมีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง ดังที่พบในพืชชนิดอื่นๆ[10] ในการเตรียม สารสกัดหยาบได้เลือกใช้ตัวทำละลาย hexane

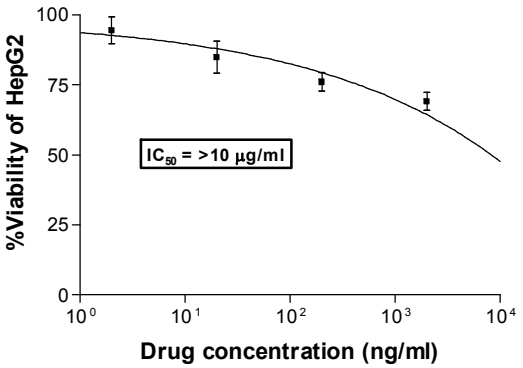
ก.



ข.

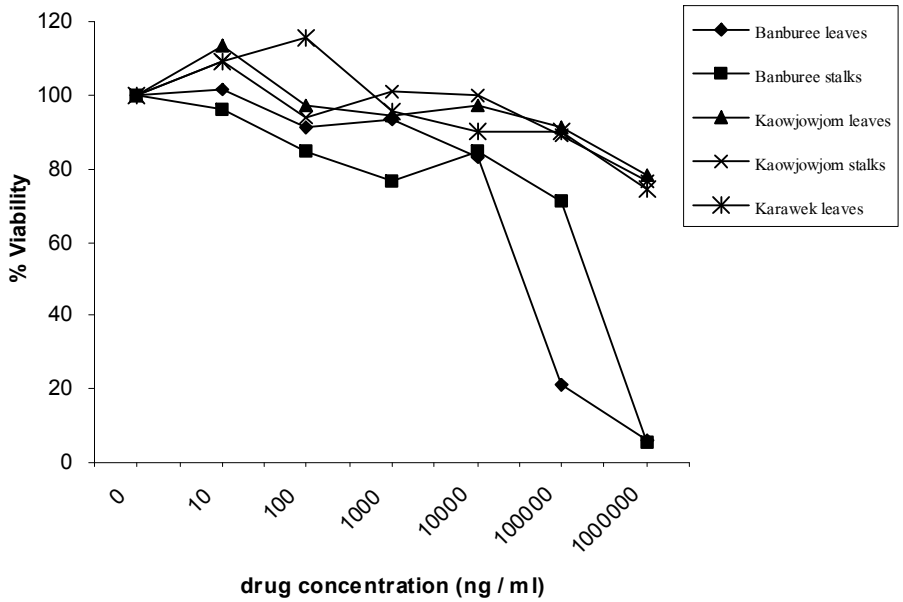


ค.

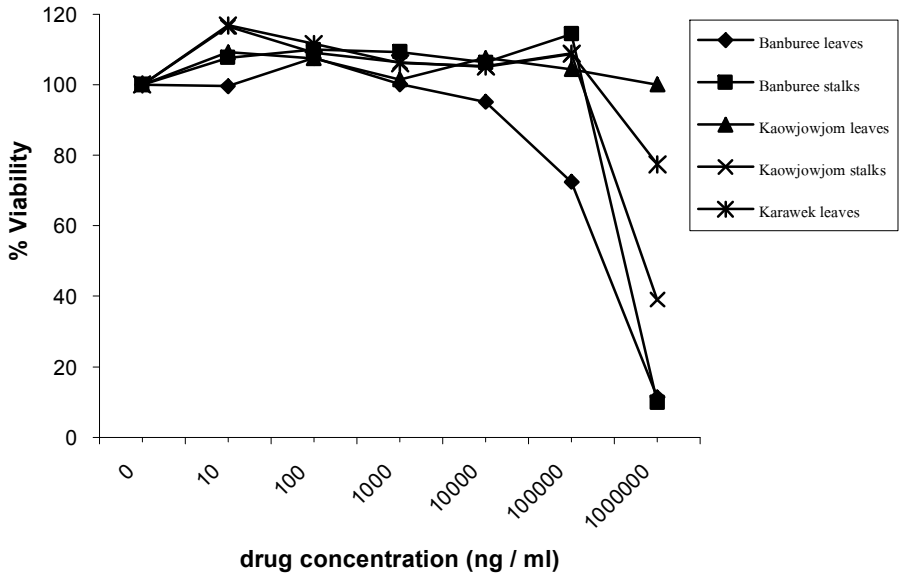


รูปที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของยาต้านมะเร็งมาตรฐาน doxorubicin ในเซลล์มะเร็งสามชนิด ก) เซลล์มะเร็งลำไส้ ข) เซลล์มะเร็งปากมดลูก ค) เซลล์มะเร็งตับ (n=3)

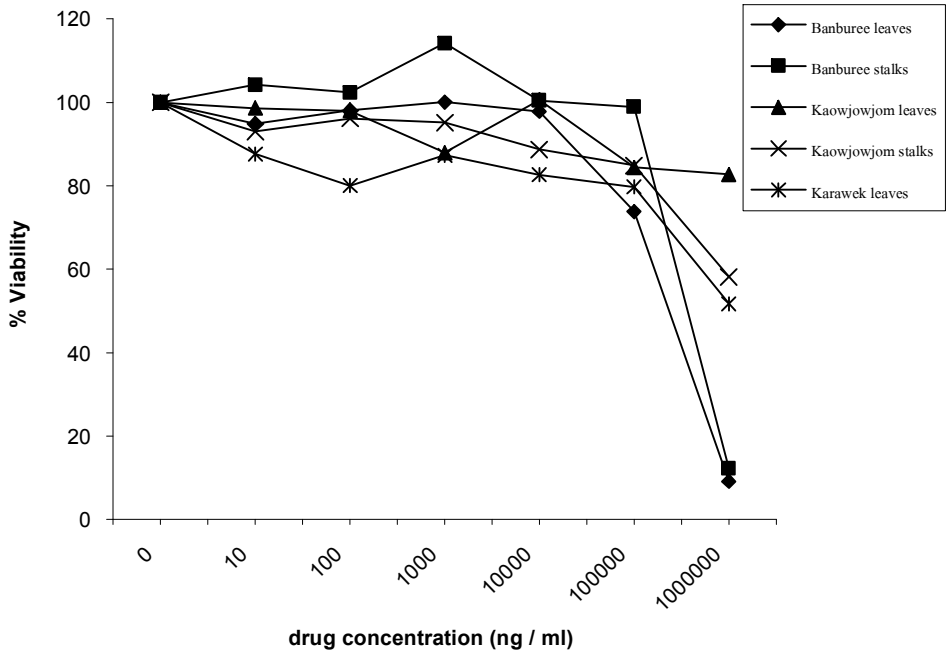
Journal of Medicine and Health Sciences
Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University
Vol. 12 No. 2 August 2005



รูปที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (COLO 205) ของสารสกัดหยาบจากพืช



รูปที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ของสารสกัดหยาบจากพืช



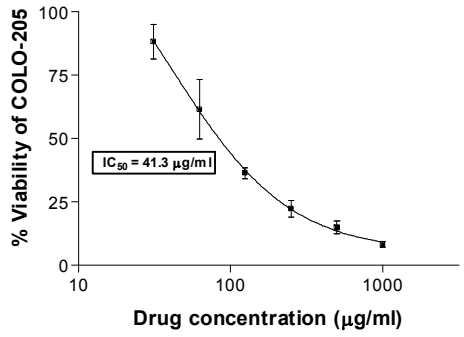
รูปที่ 4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดหยาบจากพืช

ในขั้นต้น เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีค่าของการมีขั้วต่ำที่สุด ทำให้ได้สารหลากหลายประเภท โดยเฉพาะสารกลุ่มที่ไม่มีขั้ว คุณลักษณะของสารที่สกัดได้มีลักษณะที่หนืดข้นเหมือนกัน ทุกชนิด และมีสีค่อนข้างเข้มตามสีดั้งเดิมของแต่ ละส่วนที่นำมาทดสอบ เช่น หากนำมาจากส่วน ของใบก็จะมีสีออกเขียวเข้ม เป็นต้น สารที่สกัดได้เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งปากมดลูก และเซลล์มะเร็งตับ พบว่าส่วนของใบบานบุรีเหลืองมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุด โดยมีค่า IC_{50} ที่ 41.3 227.6 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งตับ ตามลำดับ รองลงมาคือก้านบานบุรีเหลือง ในขณะที่ตัวอย่างอื่นๆ ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

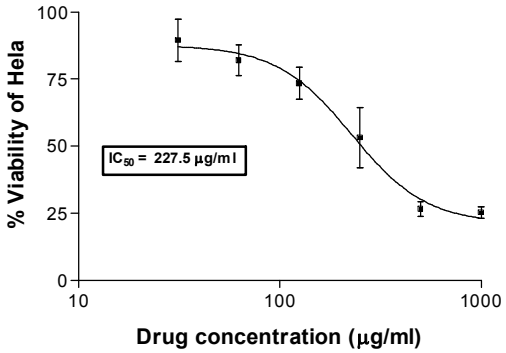
ข้อมูลที่ได้ในเบื้องต้นสามารถอธิบายได้ว่าสารออกฤทธิ์ในบานบุรีเหลือง เพื่อฆ่าเซลล์มะเร็งส่วนใหญ่น่าจะเป็นสารประเภทไม่มีขั้ว ในขณะที่สารประเภทไม่มีขั้วในสารสกัดหยาบจากตัวอย่างอื่นๆ ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ซึ่งมิได้หมายความว่าต้นแก้วเจ้าจอมและต้นการเวกไม่มีสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เนื่องจากยังมิได้ทดสอบในส่วนของสารประเภทที่มีขั้ว เช่นเดียวกับต้นบานบุรีเหลืองที่อาจจะมีสารประเภทที่มีขั้วอื่นๆ ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งอีกได้ดังที่พบในพืชชนิดอื่นๆ [12]

ค่าของสารสกัดหยาบที่ได้จากบานบุรีเหลืองมีค่าค่อนข้างสูงประมาณ 100 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับยาต้านมะเร็งมาตรฐาน ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพที่ด้อยกว่ามาก แต่การทดสอบที่ได้นี้เป็นการทดสอบจากสารสกัดหยาบ ในขณะที่ยาต้านมะเร็งมาตรฐานเป็นสารสกัดบริสุทธิ์ที่มีการทดสอบการออกฤทธิ์จนเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นหากสารสกัดหยาบนี้ได้รับการพัฒนาด้วยการเตรียมเป็นสารบริสุทธิ์ อาจทำให้เห็นถึงประสิทธิภาพได้ชัดเจนกว่า

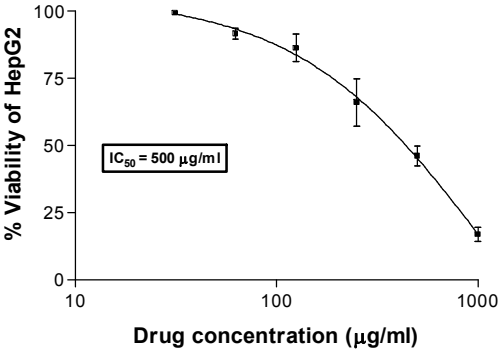
Journal of Medicine and Health Sciences
Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University
Vol. 12 No. 2 August 2005



ก.

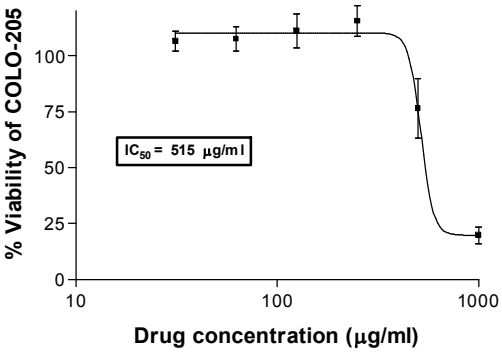


ข.

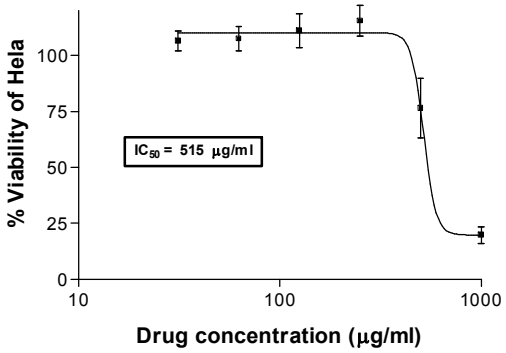


ค.

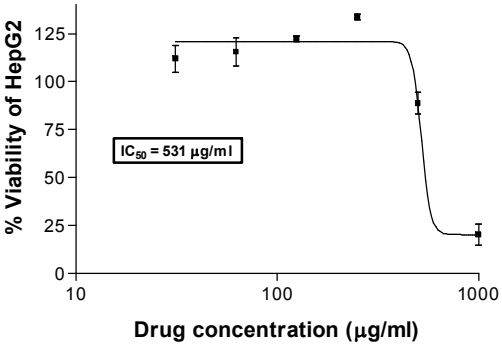
รูปที่ 5 การหาค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากใบบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อ ก) เซลล์มะเร็งลำไส้ ข) เซลล์มะเร็งปากมดลูก ค) เซลล์มะเร็งตับ (n=3)



ก.



ข.

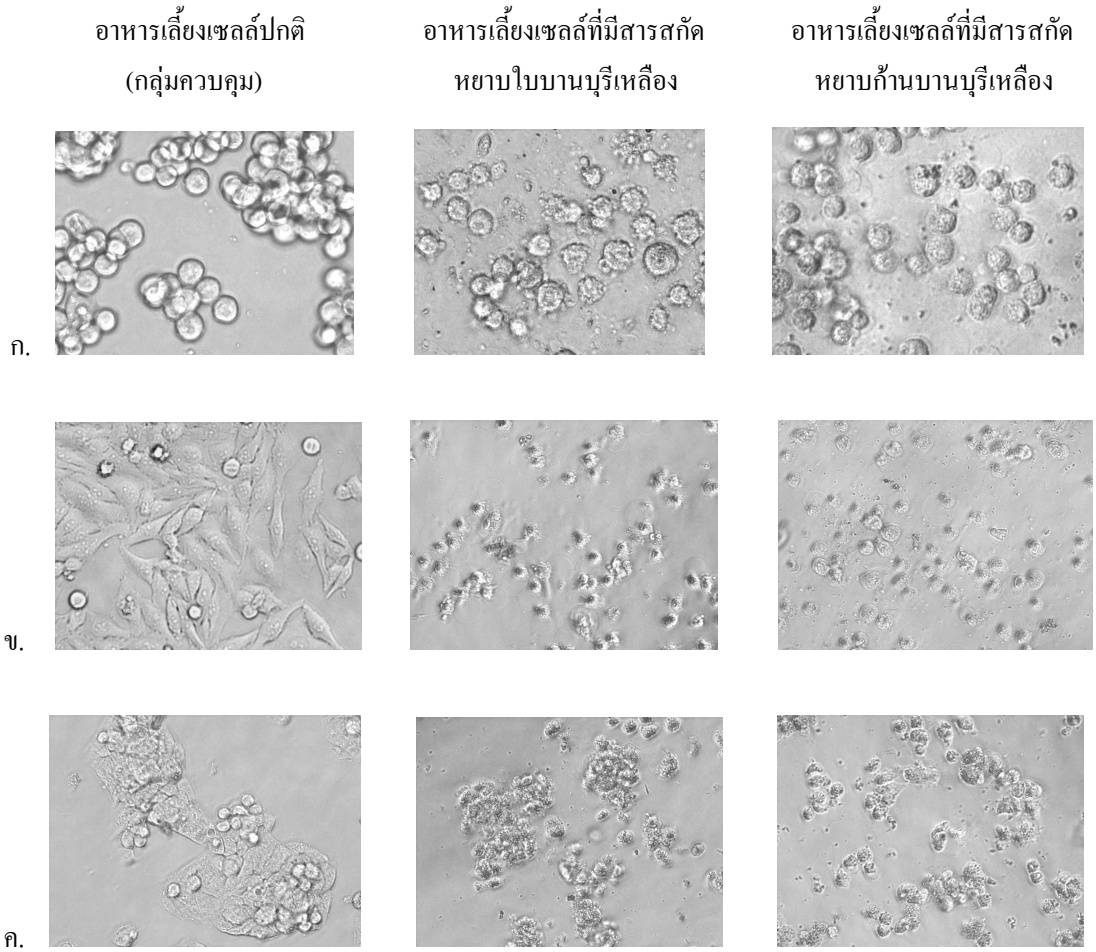


ค.

รูปที่ 6 ผลการหาค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากก้านบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อ ก) เซลล์มะเร็งลำไส้ ข) เซลล์มะเร็งปากมดลูก ค) เซลล์มะเร็งตับ (n=3)

ตารางที่ 2 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากใบและก้านบานบุรีเหลืองและยาต้านมะเร็งมาตรฐาน

พืชตัวอย่าง	ค่า IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	เซลล์มะเร็งลำไส้ (COLO 205)	เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela)	เซลล์มะเร็งตับ (HepG2)
1. ใบบานบุรีเหลือง	41.30	227.60	600
2. ก้านบานบุรีเหลือง	38.50	616.00	681
3. Doxorubicin	0.40	0.24	10



รูปที่ 7 ลักษณะของเซลล์มะเร็งภายหลังการเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบจากใบบานบุรีและก้านบานบุรี ก) เซลล์มะเร็งลำไส้ (ขยาย 400X) ข) เซลล์มะเร็งปากมดลูก (ขยาย 200X) และ ค) เซลล์มะเร็งตับ (ขยาย 200X)

ลักษณะการตายของเซลล์มะเร็งนับเป็นจุดที่น่าสนใจอีกประเด็นหนึ่ง โดยพบการหดตัวของเซลล์ มีการแตกออกเป็นชิ้นส่วนเล็กๆ และมีการโป่งพองของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับเซลล์ที่ตายด้วยกระบวนการ apoptosis กลไกการตายแบบหนึ่งที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน เซลล์ที่ตายด้วยกระบวนการ apoptosis จะมีลักษณะเด่นที่สำคัญคือ มีการหดตัวของเซลล์ (cell shrinkage) มีการหดตัวของโครมาติน (chromatin condensation) การแตกออกของนิวเคลียส (nuclear fragmentation) และมีการโป่งพองของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane blebbing) และในระยะสุดท้ายส่วนของเซลล์มีการแตกแยกออกเป็นส่วนเล็กๆ เรียกว่า apoptotic bodies[15 - 17] หากอยู่ในร่างกายส่วนของ apoptotic bodies นี้จะถูกกำจัดโดยระบบภูมิคุ้มกัน จึงไม่เกิดการกระจายของสารหรือของเสียไปยังเซลล์ข้างเคียง นั่นคือไม่ทำให้เกิดการอักเสบเหมือนกับการตายแบบ necrosis ที่จะมีลักษณะของเซลล์บวม ไม่มีการหดตัวของโครมาติน เยื่อหุ้มเซลล์แตกออกทำให้ของเหลวภายในเซลล์รั่วออกสู่ภายนอก[18- 19] การตายแบบ apoptosis จะเป็นที่น่าสนใจมากในการพัฒนายาเพื่อการนำไปใช้ต่อไป

ผลงานวิจัยนี้จึงสามารถสรุปในเบื้องต้นได้ว่า สารสกัดหยาบจากใบบานบุรีเหลืองมีสารประเภทไม่มีขั้วเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุด สมควรมีการศึกษาในระดับที่สูงขึ้น เช่น สกัดสารบริสุทธิ์มาทดสอบประสิทธิภาพการต้านมะเร็ง นอกจากนั้นยังเป็นที่น่าสนใจด้วยว่าสารที่ออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบจากใบบานบุรีเหลืองอาจมีการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ในเซลล์มะเร็ง ซึ่งหากมีการกระตุ้นจริงก็จะทำให้สารนี้มีความน่าสนใจในการพัฒนาเป็นยาต่อไปมากยิ่งขึ้น สำหรับพืชอีกสองชนิดคือ แก้วเจ้าจอม และการเวก น่าจะมีการทดสอบเพิ่มเติม โดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความแรงของขั้วเพิ่มมากขึ้น ได้แก่ เอธานอล เมธานอล เป็นต้น เพื่อสกัดเอากลุ่มสารที่มีขั้วออกมาทำการทดสอบต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในความอนุเคราะห์ใช้เครื่อง rotary evaporator ขอขอบคุณ รศ. ดร. มธุรส พงษ์ลิขิตมงคล มหาวิทยาลัยมหิดล รศ. ดร.รมิดา วัฒนโภคาสิน มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และ ดร.จุรี เจริญธีรบูรณ์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ในความอนุเคราะห์เซลล์มะเร็ง และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในการให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย โดยเป็นทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัย (เงินกองทุนส่งเสริมและพัฒนาการวิจัย) โครงการทุนวิจัยไม่กำหนดทิศทางประจำปี 2547

เอกสารอ้างอิง

1. Lee YS, Jin D-Q, Kwon EJ, et al. Asiatic acid, a triterpene, induce apoptosis through intracellular Ca^{2+} release and enhanced expression of p53 in HepG2 human hepatoma cells. Cancer Lett 2002; 186: 83-91.
2. Melo PS, Gusto GZ, Duran N, et al. Natural killer cell activity and anti-tumor effects of dehydrocrotonin and its synthetic derivatives. Eur J Pharma 2004; 487: 47-54.
3. Cavalieri E, Mariotto S, Fabrizi C, et al. alpha-bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. BBRC 2004; 315:589-94.
4. Liu W-K, Ho JCK, Cheung FWK, et al. Apoptotic activity of betulinic acid derivatives on murine melanoma B16 cell line. Eur J Pharma 2004; 498: 71-8.
5. Urech K, Scher JM, Hostanska K, et al. Apoptosis inducing activity of viscin, a lipophilic extract from Viscum album L. J Pharmacy Pharmaco 2005; 57: 101-9.
6. Tiwari TN, Pandey VB, and Dubey NK. Plumieride from Allamanda cathartica as an antidermatophytic agent. Phytother Res 2002; 16(4): 393-4.
7. Alen Y, Nakajima S, Nitoda T, Baba N, Kanzaki H, and Kawazu K. Antinematodal activity of some tropical rainforest plants against the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus. Z Naturforsch (C). 2000, 55(3-4): 295-9.
8. Duwiejua M, Zeitlin IJ, Waterman PG, and Gray AI. Anti-inflammatory activity of Polygonum bistorta, Guaiacum officinale and Hamamelis virginiana in rats. J Pharm Pharmacol 1994, 46(4): 286-90.
9. Almeida Alves TM, Nagem TJ, Ribeiro A et al. Molluscicidal saponins from Guaiacum officinale (ZYGOPHYLLACEAE). Int J Pharmacog 1996, 34 (2): 81-6
10. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
11. อนันต์ คงชุม. การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบที่แยกได้จากลำต้นหลอดเถื่อน (Mallotus

oblongifolius Muell. Arg.). ปริญญานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 2544. 17-19.

12. วินัย สุขราช. การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จากเหง้าพุทธรักษา (Canna indica Linn.). ปริญญานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 2544. 18-20.
13. Uthaisang W, Reutrakul V, Krachangchaeng C, et al. VR-3848, a novel peptide derived from Euphobiaceae, induce mitochondria-dependent apoptosis in human leukemia cells. Cancer Lett 2004; 28: 171-8.
14. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983; 65: 55-63
15. Kerr JFR, Wyllie AH, and Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26: 239-57.
16. Webb SJ, Harrison DJ, and Wyllie AH. Apoptosis: an overview of the process and its relevance in disease. Adv in Pharmacol 1997; 41: 1-33.
17. Oberhammer F, Wilson JW, Dive C, et al. Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DNA to 300 and /or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation. EMBO J 1993; 12: 3679-84.