การวิเคราะห์ปริมาณสารบริสุทธิ์ของน้ำคั้นมะขามป้อมสดด้วย HPLC และผลต่อการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากสารพิษ

DETERMINATION OF PURE COMPOUNDS IN PHYLLANTHUS EMBLICA FRUITS JUICE USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY AND CARDIOPROTECTIVE EFFECT AGAINST CYTOTOXIC AGENT

มณีวรรณ สุวัฒน์รณกร[1], *สุวรา วัฒนพิทยกุล* [2]

[1]*หลักสูตรชีวภาพการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

[2]*ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

บทคัดย่อ

มะขามป้อมเป็นพืชที่สามารถพบได้ทุกภาคของไทย มีการนำไปใช้เป็นองค์ประกอบของยาไทยชนิดต่าง ๆ รวมทั้งยาที่เกี่ยวข้องกับโรคหัวใจและหลอดเลือด การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบด้วยวิธี HPLC เพื่อวัตถุประสงค์ในการทำให้เป็นมาตรฐาน และตรวจประเมินฤทธิ์ปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากความเป็นพิษของยา doxorubicin ผลการวิเคราะห์แสดงว่าผลมะขามป้อมในรูปแบบ lyophilized powder มีปริมาณ ascorbic acid, hesperidin, naringin และ gallic acid อยู่ที่ 1.497%, 0.034%, 0.151% และ 0.417% ตามลำดับ แต่ตรวจไม่พบ quercetin ผลต่อการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากสารพิษที่ได้รับ (doxorubicin) นั้น พบว่า น้ำคั้นของผลมะขามป้อมสดที่ความเข้มข้น 1 และ 10 µg/mL เพิ่มเซลล์รอดชีวิตอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผลของสารบริสุทธิ์ที่มีอยู่ในน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสดทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ascorbic acid, naringin, hesperidin, และ gallic acid พบว่าเมื่อให้สารพิษ doxorubicin ลงไป สารทั้ง 4 ชนิดไม่มีผลต่ออัตราเซลล์รอดชีวิตอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นน้ำคั้นจากผลมะขามป้อมอาจมีประโยชน์ในการลดความเป็นพิษต่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจอันเนื่องมาจากสารพิษ เช่น ยา doxorubicin และการศึกษาองค์ประกอบที่เป็นสารบริสุทธิ์อาจมีความสำคัญในการกำหนดมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ต่อไปได้

คำสำคัญ: มะขามป้อม, เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ, วิตามินซี

Abstract

Phyllanthus emblica L. (PE) is distributed in most regions of Thailand. It has been used as an ingredient in traditional medicine to treat a wide variety of disease including cardiovascular disease. This study determined 5 pure compounds in Phyllanthus emblica L. fruits by HPLC for the purpose of standardization. Cytoprotective effects of PE and the pure compounds against doxorubicin toxicity were also evaluated. HPLC analysis revealed that PE in form of lyophilized powder contained ascorbic acid, hesperidin, naringin and gallic acid at the amounts of 1.497%, 0.034%, 0.151% and 0.417%, respectively. Quercetin was not detectable in the sample. For the study of cytoprotection effect, PE 1 and 10 µg/mL significantly increased cell survival while all 4 pure compounds detected in the sample (ascorbic acid, naringin, hesperidin, and gallic acid) did

not alter cell survival in the presence of doxorubicin. Thus, PE may be useful in alleviate toxicity caused by cytotoxic agents such as doxorubicin. Moreover, the study of pure constituents may important for the standardization of this natural product.

Keywords: Phyllanthus emblica, Cardiac cell, Ascorbic acid

บทนำ

มะขามป้อม เป็นพืชอยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Phyllanthus emblica L. ซึ่งสามารถพบได้ในทุกภาคของประเทศไทย ผลของมะขามป้อมสดมีลักษณะเป็นลูกทรงกลมสีเหลืองอมเขียว มีการนำผลของมะขามป้อมสดมาใช้ในทางยา โดยมีการใช้เป็นส่วนประกอบของตำรายาไทยต่างๆ หลายตำรับ เช่น ตรีผลา แก้ไอ และยาสามัญประจำบ้าน เช่น ยาอัมฤควาที ยามหาจักรใหญ่ เป็นต้น นอกจากนี้ในประเทศอินเดีย และบางประเทศในยุโรปก็ใช้มะขามป้อมเป็นส่วนประกอบในตำรับยาแผนโบราณ ผลของมะขามป้อมสดนั้นจัดว่าเป็นผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าผลไม้บางชนิดมาก [1] และยังมีสารจำพวกโพลีฟีนอลต่างๆ เป็นจำนวนมาก เช่น ellagic acid, gallic acid และ tannins เป็นต้น [2] นอกจากนี้ ในผลของมะขามป้อมยังพบว่ามีสารอื่นๆ เช่น hesperidin [3], naringin [3] และ quercetin เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์เป็นแอนติออกซิแดนซ์ที่ดี และได้รับการพิสูจน์ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาซึ่งพบได้จากรายงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับผลของมะขามป้อมสด เช่น สามารถใช้ในการป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร [4] ลดคลอเรสเตอรอล [5] ลดระดับน้ำตาลในเลือด [6] และลดอัตราการเกิดโรคมะเร็ง [7] นอกจากนี้ยังพบว่ามีการนำผลของมะขามป้อมสดมาทำเป็นเครื่องสำอางค์ต่างๆ เป็นจำนวนมาก เนื่องจากผลของมะขามป้อมสดจะช่วยในการทำความสะอาดผิว

เป็นที่ทราบกันดีว่าสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติจะมีความความแปรปรวนของปริมาณสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบซึ่งขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ภูมิอากาศ ระดับความสูงจากน้ำทะเล ความชื้น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน และองค์ประกอบของแร่ธาตุในดิน เป็นต้น ดังนั้นการตรวจวัดหาปริมาณสารสำคัญจึงมีความสำคัญในการควบคุมมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลงไปตาม lot หรือ batch ของการผลิตและเพื่อให้เป็นแนวทางปฏิบัติตามแบบสากล โครงการนี้จึงตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่พบได้ในผลมะขามป้อม ได้แก่ ปริมาณ ascorbic acid (vitamin C), quercitin, naringin, hesperidin และ gallic acid ด้วยวิธี HPLC นอกจากนี้ยังศึกษาผลในการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจหนูจากสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic agent) เนื่องจากมะขามป้อมสดมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง [8,9] และจากการที่ตำรายาไทยใช้ผลของมะขามป้อมสดเป็นส่วนผสมของยาบำรุงหัวใจ ดังนั้นจึงอาจจะมีฤทธิ์เกี่ยวข้องกับการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากสารพิษที่ได้รับ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาปริมาณสารสำคัญในผลมะขามป้อมด้วยวิธี HPLC เพื่อเป็นมาตราฐานในการตรวจสอบคุณภาพของน้ำคั้นมะขามป้อมสด และศึกษาฤทธิ์ปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากสารพิษ

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสด

นำผลมะขามป้อมที่ได้มาจากร้านค้ามาแยกเมล็ดออก นำเนื้อมะขามป้อมมาปั่นคั้นแยกกากและนำไปปั่นตกตะกอนอีกครั้งที่ความเร็ว 1000xg จากนั้นจะนำน้ำคั้นส่วนใสที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษ whatmann เบอร์ 1 ซึ่งจะทำให้ได้น้ำคั้นจากผลมะขามป้อมสด หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยวิธีการ freeze-dry จะได้สารอยู่ในรูป lyophilized และเก็บในรูปของผงแห้งในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ในการศึกษาทดลองนั้นจะใช้ผงแห้งที่ได้เตรียมที่ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2. การศึกษาวิเคราะห์ตรวจวัดปริมาณสารบริสุทธิ์ของน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสด โดยใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromato graphy (HPLC)

ใช้ column Luna C18 [2] 100A (5µm, 150×4.6mm; Fortune Scientific CO., LTD, Bangkok, Thailand) ในการแยกหาสารบริสุทธิ์ในน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสด ซึ่งสารบริสุทธิ์ ได้แก่ ascorbic acid, naringin, hesperidin, quercetin และ gallic acid จะเตรียมสารที่ความเข้มข้น 10mg/mL จากนั้นจะเจือจางให้ได้ 5 ความเข้มข้นเพื่อใช้ในการทำ standard curve โดยการตรวจวัดปริมาณสาร ascorbic acid และ quercetinของน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสด โดยใช้ mobile phase เป็น 100 mM phosphate buffer (pH 2.5) 95% กับ methanol 5% [10] ในส่วนการตรวจวัดปริมาณสาร naringin และ hesperidin ใช้ mobile phase เป็น 12 mmol HFBA (Heptafluorobutyric Acid) in 0.05% formic acid 80% กับ acetronitrile 20% [11] ส่วนสาร gallic acid ใช้ mobile phase เป็น 0.02% dihydrogen phosphate 95% กับ acetronitrile 5% [12] (ตารางที่ 1) ผลการศึกษาจะรายงานในรูปของ chromatogram และนำพื้นที่ใต้กราฟนั้นไปคำนวณหาปริมาณสารบริสุทธิ์

ตารางที่ 1 ระบบ HPLC ที่เหมาะสมในการแยกสารแต่ละชนิด

Standard	Solvent System	Flow rate	Wave lenght	Isocratic/ Gradient	Reference
Ascorbic acid	100 mM phosphate buffer 95%(A) Methanol 5%(B)	0.4 ml/min	243 nm	isocratic elution	Fernandez-Robredo, 2005 [10]
Quercetin	100 mM phosphate buffer 95%(A) Methanol 5%(B)	0.4 ml/min	243 nm	isocratic elution	Fernandez-Robredo, 2005 [10]
Gallic	0.2% H_3PO_4-H_2O 95% (A) Acetonitrile 5% (B) เวลา (%) A (%) B 0 95 5 6 95 5 15 85 15 35 80 20	1 ml/min	280 nm	gradient elution	Kumaran and Karunakaran, 2006 [12]
Hesperidin	12 mmol HFBA in 0.05% formic acid 80%(A) Acetonitrile 20%(B)	1.2 ml/min	283 nm	isocratic elution	Ding *et al.*, 2007 [11]
Naringin	12 mmol HFBA in 0.05% formic acid 80%(A) Acetonitrile 20%(B)	1.2 ml/min	283 nm	isocratic elution	Ding *et al.*, 2007 [11]

3. การศึกษาผลต่อการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากสารพิษ

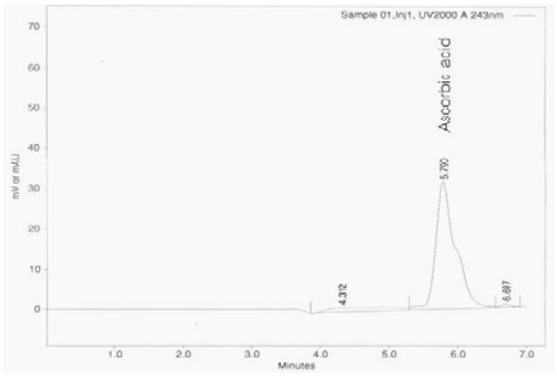
ศึกษาผลของความเป็นพิษต่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจหนูด้วยวิธี crystal violet assay เริ่มจากการเลี้ยงเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจหนูขาว (H9C2) ลงใน 96-well plate โดยเลี้ยงด้วย 1%FBS DMEM (20,000 เซลล์/หลุม) เลี้ยงในตู้เลี้ยงเซลล์ 37 °C 5% CO_2 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยดสารต่างๆ ที่ต้องการศึกษาและเลี้ยงในตู้เลี้ยงเซลล์ต่ออีก 30 นาที จึงหยด doxorubicin ลงไป และเลี้ยงในตู้เลี้ยงเซลล์ต่ออีก 48 ชั่วโมง จึงจะเก็บผล crystal violet assay ด้วยการ fix เซลล์ด้วย 10% formaldehyde นาน 20 นาที และย้อมสีเซลล์ด้วย 0.1% crystal violet solution เป็นเวลา 20 นาที และล้างสีที่ในส่วนที่เกินออกจากนั้นละลายสีออกจากเซลล์ด้วย citric acid และนำ microplate ไปวางบนเครื่อง Shaker ประมาณ 30 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 595 nm ด้วยเครื่อง microplate reader

ผลการวิจัย

1. ปริมาณสารบริสุทธิ์ของน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสดโดยใช้เทคนิค HPLC

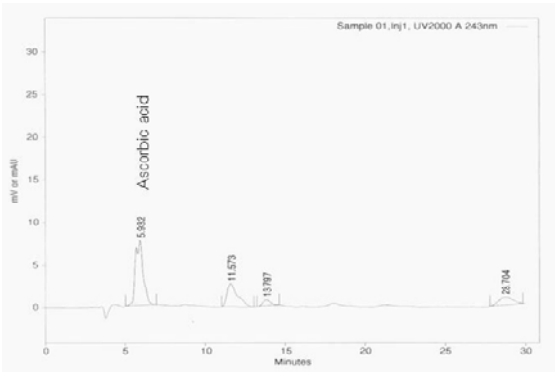
จากผลการวิเคราะห์สารบริสุทธิ์ 5 ชนิด ในน้ำคั้นมะขามป้อมสด พบว่า มีปริมาณวิตามินซี หรือ ascorbic acid เท่ากับ 1.497±0.012%, hesperidin 0.034±0.010%, naringin 0.151±0.005% และ gallic acid 0.417±0.013% ส่วน quercetin นั้นไม่สามารถตรวจพบได้ (ภาพที่ 1)

A)



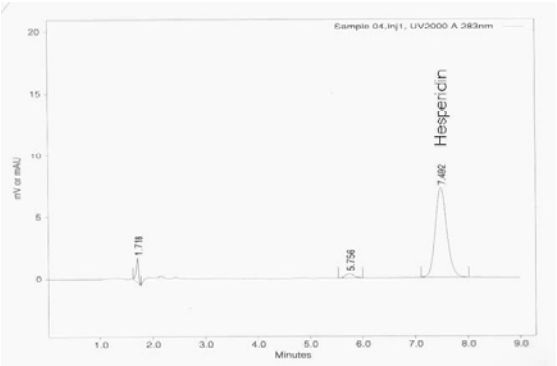
Ascorbic acid 4 µg/mL

B)



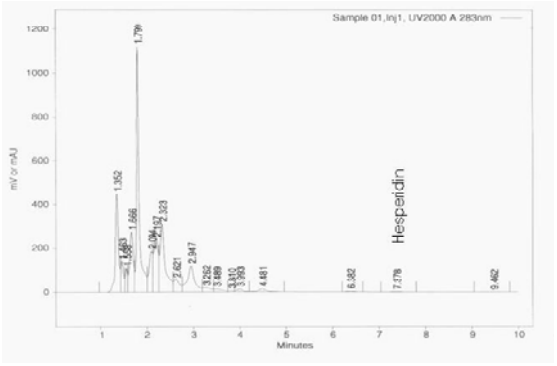
Phyllanthus emblica L. (PE) 100 µg/mL

C)

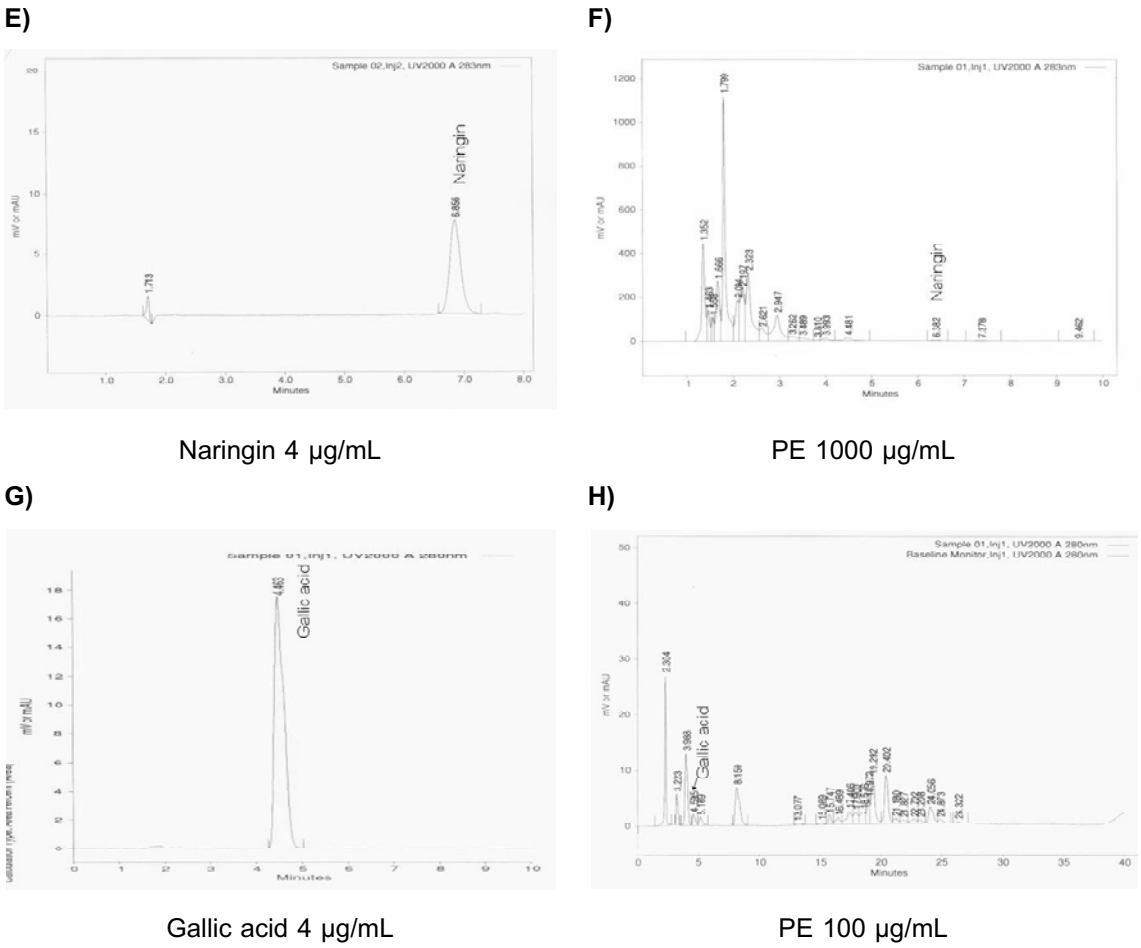


Hesperidin 4 µg/mL

D)



PE 1000 µg/mL

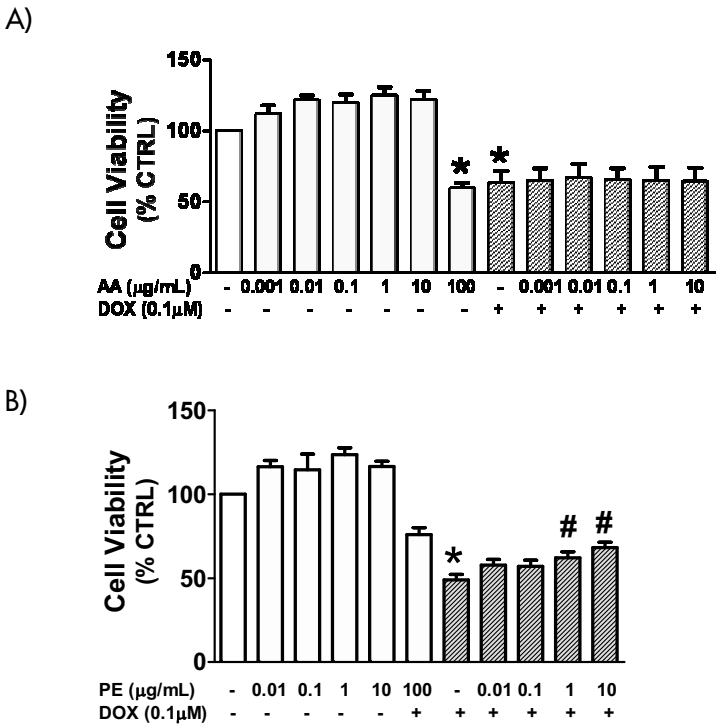


ภาพที่ 1 HPLC โครมาโตแกรมของสารบริสุทธิ์ และน้ำคั้นมะขามป้อม แสดง peak ของสารบริสุทธิ์ 4 ชนิด เปรียบเทียบกับน้ำคั้นมะขามป้อม ได้แก่ ascorbic acid (A,B), hesperidin (C,D), naringin (E,F), gallic acid (G,H) โดยนำพื้นที่ใต้กราฟนั้นไปคำนวณหาปริมาณสารบริสุทธิ์จากกราฟมาตรฐาน

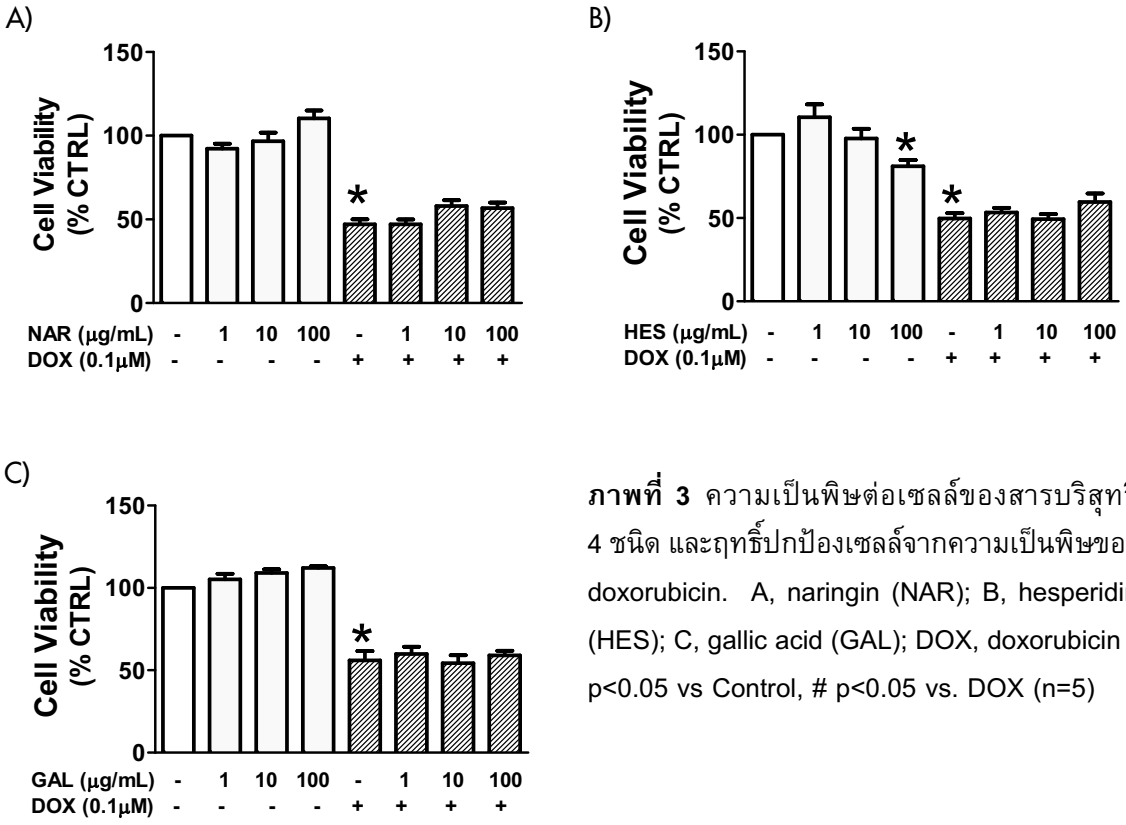
2. ฤทธิ์ปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากสารพิษ

ผลต่อการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากสารพิษ ซึ่งใช้ doxorubicin ซึ่งเป็นยาต้านมะเร็ง มีกลไกการออกฤทธิ์คือ เหนี่ยวนำให้เกิด DNA damage และ การทำลายเซลล์ด้วยการสร้างสารอนุมูลอิสระ [13] เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของเซลล์หลังได้รับสารพิษ doxorubicin กับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารพิษ และกลุ่มที่ได้รับทั้งสารพิษและได้รับน้ำคั้นมะขามป้อมหรือวิตามินซีด้วยวิธี crystal violet assay ดังแสดงในภาพที่ 2 พบว่า น้ำคั้นผลมะขามป้อมสดและวิตามินซีไม่มีผลต่อการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจหนู (ที่ความเข้มข้น 0.01-10 µg/mL) แต่ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 100 µg/mL วิตามินซีทำให้เซลล์รอดชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อให้สารพิษ doxorubicin (0.1 µM) พบว่าเซลล์รอดชีวิตมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ น้ำคั้นของผลมะขามป้อมสดที่ความเข้มข้น 1 และ 10 µg/mL เพิ่มเซลล์รอดชีวิตจากความเป็นพิษของ doxorubicin อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่วิตามินซีที่ความเข้มข้น 0.01-10 µg/mL ไม่มีฤทธิ์ปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจากความเป็นพิษของ doxorubicin

ภาพที่ 3 แสดงผลการศึกษาผลของสารบริสุทธิ์ที่มีอยู่ในน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสดอีก 3 ชนิด ได้แก่ naringin, hesperidin, และ gallic acid พบว่าเมื่อให้สารพิษ doxorubicin ลงไป สารทั้ง 4 ชนิดไม่มีผลต่อเซลล์รอดชีวิตอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อให้ hesperidin เดี่ยวๆ ที่ความเข้มข้น 100 µg/mL พบว่าทำให้ลดเซลล์รอดชีวิตอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารชนิดอื่นๆ ไม่พบความเปลี่ยนแปลงทางสถิติเมื่อบ่มร่วมกับเซลล์ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 100 µg/mL



ภาพที่ 2 ผลของ ascorbic acid (AA) และน้ำคั้นมะขามป้อม ต่อการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจาก doxorubicin (DOX). AA, ascorbic acid; PE, น้ำคั้นมะขามป้อม; * p<0.05 vs Control, # p<0.05 vs. DOX (n=4)



ภาพที่ 3 ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารบริสุทธิ์ 4 ชนิด และฤทธิ์ปกป้องเซลล์จากความเป็นพิษของ doxorubicin. A, naringin (NAR); B, hesperidin (HES); C, gallic acid (GAL); DOX, doxorubicin * p<0.05 vs Control, # p<0.05 vs. DOX (n=5)

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาทดลองนี้ได้นำน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสดมาแยกหาปริมาณสารบริสุทธิ์ 5 ชนิด ได้แก่ ascorbic acid, naringin, hesperidin, quercetin และ gallic acid ด้วยวิธีการ HPLC และนำมาศึกษาผลการปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจหนูจาก doxorubicin โดยพบว่าน้ำคั้นของผลมะขามป้อมสดมีปริมาณ ascorbic acid สูงที่สุดในกลุ่มสารบริสุทธิ์ที่วิเคราะห์ทั้ง 5 ชนิด โดยพบปริมาณ gallic acid> hesperidin > naringin มากรองลงมา ส่วน quercetin ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ที่พบได้จากพืชหลายชนิด ตรวจไม่พบในมะขามป้อมที่นำมาศึกษา ในด้านฤทธิ์ปกป้องเซลล์จากความเป็นพิษของ doxorubicin (0.1 μM) พบว่าผงน้ำคั้นมะขามป้อมที่ความเข้มข้น 1 และ 10 μg/mL สามารถเพิ่มการรอดชีวิตของเซลล์ได้อย่างมีนัยสำคัญในขณะที่สารบริสุทธิ์ทั้ง 4 ชนิด ที่ทำการศึกษาในช่วงความเข้มข้น 1, 10 และ 100 μg/mL ไม่เปลี่ยนแปลงการรอดชีวิตของเซลล์ที่ได้รับสารพิษ doxorubicin

ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Poltanov และคณะ [14] ที่แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบหลักของผลมะขามป้อมคือ ascorbic acid และ สารในกลุ่มฟีนอลได้แก่ gallic acid, ellagic acid, และ corilagin นอกจากนี้ยังพบสารอื่นๆ ที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ และเป็นเอกลักษณ์ของสารที่ได้มะขามป้อม เช่น สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น kaempferol; สารในกลุ่ม tannins ได้แก่ emblicanins A และ B [15], phyllaemblicin B (the main ellagitannin) [16], และ pyrogallol [17] เป็นต้น

จากการศึกษาที่ผ่านมา มีหลักฐานที่เด่นชัดในการสนับสนุนฤทธิ์ปกป้องเซลล์และฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นจากมะขามป้อมในหลาย model ทั้งแบบในสัตว์ทดลอง (in vivo) ในมนุษย์และนอกกาย (in vitro) พบว่าการใช้มะขามป้อมในลักษณะสารสกัดหยาบ (crude extract) หรือสารบริสุทธิ์บางชนิดที่เป็นองค์ประกอบ มีฤทธิ์ในการต้านการทำลายเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำจากสารพิษหรือภาวะ oxidative stress เช่น พบว่า สารสกัดหยาบสามารถป้องกันการสลายของกระดูกอ่อนโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการปลดปล่อย glycosaminolycan จากเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน osteoarthritis ที่แยกออกมาการศึกษาในหลอดทดลอง [18] สาร phyllaemblicin B มีฤทธิ์ลดการเกิดพยาธิสภาพบริเวณ กล้ามเนื้อหัวใจหนูถีบจักรที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัส Coxsackie virus B3 (16), ลดการเสื่อมหน้าที่ของไตหนูที่เข้าสู่ภาวะชราโดยผ่านกลไกต้านการเกิด oxidative stress [19], และป้องกันการทำลายเซลล์ตับในหนูที่ได้รับสารพิษ carbon tetrachloride และ thioacetamide [20] แต่จากผลการทดลอง จะเห็นว่าการใช้สารบริสุทธิ์เดี่ยวๆ 4 ชนิด ที่เป็นพบว่าเป็นองค์ประกอบอยู่ในมะขามป้อม ไม่สามารถปกป้องเซลล์หัวใจจากความเป็นพิษของ doxorubicin ได้ ดังนั้น จึงอาจเป็นไปได้ว่า สารดังกล่าวไม่มีฤทธิ์ปกป้องเซลล์ในโมเดลนี้ โดยสารที่ออกฤทธิ์เป็นสารชนิดอื่นๆ ที่มีอยู่ในมะขามป้อม หรือการปกป้องเซลล์อาจต้องอาศัยการทำงานของสารหลายชนิดเพื่อเสริมฤทธิ์กัน การทดสอบโดยใช้สารเดี่ยวๆ จึงอาจไม่เห็นผลที่เกิดขึ้นหรือเห็นผลน้อยเมื่อเทียบกับการใช้สารหลายชนิดร่วมกัน ดังตัวอย่างที่พบได้บ่อยในการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพร คือ สารบริสุทธิ์เดี่ยวๆ ที่แยกได้ จะมีฤทธิ์น้อยกว่า fraction ที่แยกได้จากการ สกัดหยาบ [21, 22]

Doxorubicin เป็นยาเคมีบำบัดที่ใช้บำบัดรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งแต่เกิดมักเกิดความเป็นพิษต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ปกป้องเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจหนูจาก doxorubicin จึงอาจมีประโยชน์ในการนำผลมะขามป้อมสดมาใช้ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาด้วยเคมีบำบัด และเพื่อช่วยลดอัตราการเกิดพิษต่อกล้ามเนื้อหัวใจในผู้ป่วยโรคมะเร็งหรือลดผลข้างเคียงจากยา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้แก่ ทุนจากบัณฑิตวิทยาลัย (เลขที่สัญญา 203/2552) และทุนจากศูนย์ซ่อมแซมเซลล์และเวชศาสตร์คืนสภาพ (เลขที่สัญญา 134/2552)

เอกสารอ้างอิง

[1] Scartezzini, P., Antognoni, F., Raggi, M.A., Poli, F . and Sabbioni, C. (2006). Vitamin C content and Antioxidant Activity of the Fruit and of the Ayurvedic Preparation of Emblica officinalis Gaertn. *Journal Ethnopharmacol,* 104(1-2), 113-118.

[2] Bhattacharya, A., Chatterjee, A., Ghosal, S. and Bhattacharya, S.K. (1999). Antioxidant Activity of Active Tannoidprinciples of Emblica officinalis (amla). *Indian Journal of Experimental Biology,* 37(7), 676-680.

[3] Singh, D.P., Govindarajan, R., and Rawat, A.K. (2008). High-Performance Liquid Chromatography as a tool for the Chemical Standardisation of Triphala--an Ayurvedic Formulation. *Phytochem Analysis,* 19(2), 164-168.

[4]Bandyopadhyay, S.K., Pakrashi. S.C., and Pakrashi, A. (2000). The Role of Antioxidant Activity of Phyllanthus emblica Fruits on Prevention from Indomethacin Induced Gastriculcer. *Journal Ethnopharmacol,* 70(2), 171-6.

[5] Yokozawa, T., Kim, H.Y., Kim, H.J., Okubo, T., Chu, D.C., and Juneja, L.R., Amla (Emblica officinalis Gaertn.) Prevents Dyslipidaemia and Oxidative Stress in the Ageing Process. *British Journal of Nutrition,* 97(6), 1187-1195.

[6] Rao, T.P., Sakaguchi, N., Juneja, L.R., Wada, E., and Yokozawa, T. (2005). Amla (Emblica officinalis Gaertn.) extracts reduce oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food,* 8(3), 362-8.

[7] Rajeshkumar, N.V., Pillai, M.R., and Kuttan R. (2003). Induction of Apoptosis in Mouse and Human Carcinoma Cell Lines by Emblica officinalis polyphenols and its Effect on Chemical Carcinogenesis. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research,* 22(2), 201-212.

[8] Chen, T.S., Liou, S.Y., and Chang, Y.L. (2008). Antioxidant Evaluation of Three Adaptogen Extracts. *American Journal of Chinese Medicine,* 36(6), 1209-1217.

[9] Bajpai, M., Pande, A., Tewari, S.K., and Prakash, D. (2005). Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Some Food and Medicinal Plants. *International Journal of Food Science and Technology,* 56(4), 287-291.

[10] Fernandez-Robredo, P., Moya, D., Rodriguez, J.A., and Garcia-Layana, A. (2005). Vitamins C and E Reduce Retinal Oxidative Stress and Nitric Oxide Metabolites and Prevent Ultrastructural Alterations in Porcine Hypercholesterolemia. *Investigative Ophthalmology & Visual Science,* 46(4), 1140-1146.

[11] Ding, L., Luo, X., Tang, F., Yuan, J., Liu, Q., and Yao, S. (2007). Simultaneous Determination of Flavonoid and Alkaloid Compounds in Citrus Herbs by High-Performance Liquid Chromatography-Photodiode Array Detection-Electrospray Mass Spectrometry. *Journal Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences,* 857(2), 202-209.

[12] Kumaran, A., and Karunakaran, R.J. (2006). Nitric Oxide Radical Scavenging Active Components from Phyllanthus emblica L. *Plant Foods for Human Nutrition,* 61(1), 1-5.

[13] Wattanapitayakul, S.K., Chularojmontri, L., Herunsalee, A., Charuchongkolwongse, S., Niumsakul, S., and Bauer, J.A. (2005). Screening of Antioxidants from Medicinal Plants for Cardioprotective Effect against Doxorubicin Toxicity. *Basic & Clinical Pharmacology & Pharmacology & Toxicology,* 96(1), 80-87.

[14] Poltanov, E.A., Shikov, A.N., Dorman, H.J., Pozharitskaya, O.N., Makarov, V.G., Tikhonov, V.P., and et al. (2009). Chemical and antioxidant evaluation of Indian gooseberry (Emblica officinalis Gaertn., syn. Phyllanthus emblica L.) supplements. Phytotherapy Research, 23(9), 1309-1315.

[15] Majeed, M., Bhat, B., Jadhav, A.N., Srivastava, J.S., and Nagabhushanam, K. (2009). Ascorbic Acid and Tannins from Emblica Officinalis Gaertn. Fruits--a Revisit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,*14;57(1), 220-225.

[16] Wang, Y.F., Wang, X.Y., Ren, Z., Qian, C.W., Li, Y.C., Kaio, K., and et al. (2009). Phyllaemblicin B Inhibits Coxsackie Virus B3 Induced Apoptosis and Myocarditis. *Antiviral Research,* 84(2),150-8.

[17] Nicolis, E., Lampronti, I., Dechecchi, M.C., Borgatti, M., Tamanini, A., Bianchi, N., and et al. (2008). Pyrogallol, an Active Compound from the Medicinal Plant Emblica officinalis, Regulates Expression of Pro-inflammatory Genes in Bronchial Epithelial Cells. *International Immunopharmacol,* 8(12), 1672-1680.

[18] Sumantran, V.N., Kulkarni, A., Chandwaskar, R., Harsulkar, A., Patwardhan, B., Chopra, A., and et al. (2008). Chondroprotective Potential of Fruit Extracts of Phyllanthus emblica in Osteoarthritis. *Evid Based Complement Evidence-based Complementary and Alternative Medicine,* 5(3), 329-335.

[19] Yokozawa, T., Kim, H.Y., Kim, H.J., Tanaka, T., Sugino, H., Okubo, T., and et al. (2007). Amla (Emblica officinalis Gaertn.) Attenuates Age-related Renal Dysfunction by Oxidative Stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 55(19), 7744-7752.

[20] Mir AI, Kumar B., Tasduq, S.A., Gupta, D.K., Bhardwaj, S., and Johri, R.K. (2007). Reversal of hepatotoxin-Induced Pre-fibrogeic Events by Emblica officinalis--a Histological Study. *Indian Journal of Experimental Biology,* 45(7), 626-629.

[21] Agnihotri, V.K., Elsohly, H.N., Khan, S.I., Smillie, T.J., Khan, I.A., and Walker, L.A. (2008). Antioxidant Constituents of Nymphaea Caerulea Flowers. *Phytochemistry* ;69(10), 2061-2066.

[22] Wagner, H., and Ulrich-Merzenich, G. (2009). Synergy Research: Approaching a New Generation of Phytopharmaceuticals. *Phytomedicine,* 16(2-3), 97-110.