



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรไทย
บางชนิดในตำรับยาไทยพื้นบ้าน

โดย ผศ.ดร. ไพบุลย์ นันทนากรณ์ และคณะ

สิงหาคม 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรไทย บางชนิดในตำรับยาไทยพื้นบ้าน

ผู้วิจัย

1. ผศ.ดร. ไพบุลย์ นันทนากรณ์
2. ผศ. ดร.ไชยวัฒน์ ไชยสุต
3. ศ.เกียรติคุณ ดร. ไมตรี สุทธิจิตต์

สังกัด

- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ซึ่งให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยนี้ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมีบางส่วนและห้องปฏิบัติการวิจัย

คณะผู้ทำวิจัย

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
Executive summary	v
สารบัญรูป	viii
สารบัญตาราง	ix
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	xi
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	10
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	10
ผลงานที่คาดว่าจะตีพิมพ์	10
บทที่ 2 วิธีการดำเนินการวิจัย	11
สารเคมี	11
เครื่องมือและอุปกรณ์	12
วิธีการวิจัย	12
บทที่ 3 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	19
บทที่ 4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	41
บทที่ 5 เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก: ประวัติผู้วิจัย	50

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5180184

ชื่อโครงการ: การศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรไทยบางชนิดในตำรายาไทยพื้นบ้าน

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน

- | | |
|--------------------------------------|---|
| 1. ผศ.ดร. ไพบุณย์ นันทนากรณ์ | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร |
| 2. ผศ. ดร.ไชยวัฒน์ ไชยสุต | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 3. ศ.เกียรติคุณ ดร. ไมตรี สุทธิจิตต์ | คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา |

อีเมล: paiboon@su.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรบางชนิดที่ใช้รักษามะเร็งของตำรายาพื้นบ้านและแยกหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในพืชสมุนไพรนั้น สารสกัดหยาบชั้นน้ำของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดที่อยู่ในตำรายาถิ่นที่ใช้รักษามะเร็งของตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) วัดปากคลองมะขามเฒ่า อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท คือ กลุ่มน้ำ กลุ่มบก ชั้นทองพยับบาท ข้าวเจ้า ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ เตยหอม หิงถ่อน พริกขี้หนู พลู มะเกลือ มะเฟือง สับปะรด และหนอนตากหยาก ได้นำมาศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจำนวน 4 วิธี คือ 2, 2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) free radical decolorization assay, oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay, nitric oxide scavenging activity assay และ superoxide radicals scavenging activity assay, ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 (cyclooxygenase-2) และฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ฮีโมออกซีจีเนส-1 (heme oxygenase-1) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจำนวน 4 วิธีนั้นพบว่า สารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีฤทธิ์ที่แตกต่างกันในแต่ละวิธีที่ทดสอบ โดยสารสกัดหยาบชั้นน้ำของหนอนตากหยาก พลู หิงถ่อน และข้าวเย็นใต้ ให้ฤทธิ์ที่ตีปานกลางถึงดีมากในทั้ง 4 วิธีทดสอบ ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 พบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบจากใบพลูเท่านั้นที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นแอคติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 ดังนั้นพืชสมุนไพรพลูจึงถูกคัดเลือกสำหรับการศึกษาแยกหาสารสำคัญในพืชสมุนไพร

ที่มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งดีที่สุดเพียงชนิดเดียว เนื่องจากพลูมีฤทธิ์ที่ตีปานกลางถึงดีมากในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในทั้ง 4 วิธี มีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ในการศึกษาแยกหาสารสำคัญทำโดยสกัดแยกสารสกัดหยาบชั้นน้ำของใบพลูด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ แล้วนำสารสกัดหยาบชั้นคลอโรฟอร์มมาแยกหาสารสำคัญโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ทำให้ได้สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีหลักของสารสกัดชั้นน้ำของใบพลู คือ hydroxychavicol การพิสูจน์หาโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญที่แยกได้ทำโดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ พบว่าข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารสำคัญที่แยกได้มีความสอดคล้องกันดีกับข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของ hydroxychavicol ที่มีรายงานมาก่อน ดังนั้นคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพลู อาจเป็นผลส่วนหนึ่งมาจากมีองค์ประกอบหลักทางเคมีเป็น hydroxychavicol ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ที่ดี

คำหลัก : คุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็ง ตำรับยาไทย ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซิจีเนส-2 ฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตีเอนไซม์ฮีโมออกซีจีเนส-1

Abstract

Project Code : MRG5180184

Project Title : Study on the Chemopreventive Properties of Some Thai Medicinal Plants Used in Thai Traditional Medical Formulation

Investigator :

Assistant Professor Dr. Paiboon Nuntanakorn Faculty of Pharmacy, Silpakorn University

Assistant Professor Dr. Chaiyavat Chaiyasut Faculty of Pharmacy, Chiangmai University

Emeritus Professor Dr. Maitree Suttajit Faculty of Medical Sciences, Payao University

E-mail Address : paiboon@su.ac.th

Project Period : 2 years

Abstract:

This research is aimed to study the chemopreventive properties of some Thai medicinal plants used in Thai traditional medical formulation for cancer therapy, and to purify the active compounds from the medicinal plants. The water extracts of 14 Thai medicinal plants in the oral preparations from the traditional medical formulae of Phra Kru Wimonkunakorn (Laung Phor Sook) from Wat Pak Klong Makhamtoa, Amphur Maung, Chainat Province, a well known medical text for cancer therapy, named Kum-nam, Kum-bok, Khan-thong-pha-ya-bat, Khao-jao, Khao-yen-nuea, Khao-yen-tai, Toei-hom, Thing-thon, Phrik-khi-nu, Plu, Ma-kluea, Ma-feung, Sap-pa-rot and Non-tai-yak, were investigated for the chemopreventive properties by evaluating their antioxidant activities using 2, 2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) free radical scavenging assay, oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay, superoxide anion scavenging assay and nitric oxide scavenging assay, their anti-inflammatory activities by inhibiting cyclooxygenase-2 enzyme and their induction the activity of heme oxygenase-1. In the four antioxidant activity tests, it was found that antioxidant properties differed significantly among selected medicinal plants in the individual test. Among them, Non-tai-yak (*Stemona tuberosa*), Plu (*Piper betle*), Thing-thon (*Albizia procera*) and Khao-yen-tai (*Smilax glabra*) water extracts possessed moderate to high activities in all of the method used. In the anti-inflammatory activity test by inhibiting cyclooxygenase-2 enzyme, it was found that only the

water extract of Plu was active in this test. In the induction the activity of heme oxygenase-1 test, it was found that all the water extracts were active in this test. Thus, Plu was selected to purify the active compounds responsible for its chemopreventive properties because it possessed moderate to high activities in all of the antioxidant tests, and also active in the induction the activity of heme oxygenase-1 and in the anti-inflammatory activity test by inhibiting cyclooxygenase-2 enzyme. Regarding the purification of an active compound, the water extract of Plu was partitioned with three different organic solvents; hexane, chloroform and ethylacetate, respectively. The chloroform extract of Plu was further purified using the column chromatographic technique and yielded a major active compound; named hydroxychavicol. The structural elucidation of the isolated active compound was done by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopic technique. It was found that the ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of the isolated active compound were correlated well with the ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of hydroxychavicol reported previously. Thus, the chemopreventive properties of Plu might be due to a major constituent, hydroxychavicol, which possesses a good activities in antioxidant test and anti-inflammatory activity test by inhibiting cyclooxygenase-2 enzyme.

Keywords : chemopreventive properties, Thai traditional medical formulation, antioxidant activity, anti-inflammatory activity by inhibiting cyclooxygenase-2 enzyme, induction the activity of heme oxygenase-1

Executive summary

การแพทย์แผนโบราณเป็นวัฒนธรรมการดูแลสุขภาพที่อยู่คู่สังคมไทยมาตั้งแต่ก่อนอาณาจักรสุโขทัย และอยุธยา และเป็นที่ยอมรับว่าสามารถแก้ปัญหาสุขภาพได้ระดับหนึ่ง ประเทศไทยมีทรัพยากรทางธรรมชาติอุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง พืชสมุนไพรเป็นจำนวนมากจึงได้นำมาใช้ในการแพทย์แผนโบราณเพื่อการดูแลสุขภาพของผู้คนในสังคมไทย ในด้านการรักษาความเจ็บป่วยในโรคต่าง ๆ เช่น เบาหวาน ท้องร่วง ความดันโลหิต หัวใจ มะเร็ง เป็นต้น แต่ทั้งนี้การแพทย์แผนโบราณเป็นการเรียนและสืบทอดความรู้ในการรักษา โดยบางครั้งยังขาดการยืนยันข้อเท็จจริงทางวิทยาศาสตร์ซึ่งนับวันองค์ความรู้ที่สืบทอดมานี้จะยิ่งสูญหาย ทั้งๆที่เกิดจากภูมิปัญญาท้องถิ่นและเป็นผลผลิตที่มีคุณค่าใกล้ตัวผู้คนในสังคม ซึ่งภาครัฐควรให้ความเอาใจใส่ส่งเสริมให้เห็นคุณค่าและความสำคัญ โดยผลการศึกษาจะช่วยสนับสนุนนโยบายรัฐในการปรับโครงสร้างเศรษฐกิจให้สมดุลและแข่งขันได้โดยนับเป็นการส่งเสริมการวิจัยและพัฒนานวัตกรรมและเทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรควบคู่ไปกับภูมิปัญญาท้องถิ่นเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน

มะเร็งเป็นโรคที่ก่อให้เกิดปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของทุกประเทศรวมทั้งประเทศไทยด้วย โรคมะเร็งจัดเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้นๆ ของคนไทย การรักษาโรคมะเร็งโดยยาเคมีบำบัดนั้นมีราคาแพงมากและต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ประเทศไทยต้องสูญเสียดุลการค้าเป็นจำนวนมาก ในการแพทย์แผนโบราณของประเทศไทยได้มีการใช้พืชสมุนไพรจำนวนมากสำหรับการรักษามะเร็ง ซึ่งข้อมูลการใช้ประโยชน์ของพืชสมุนไพรเหล่านี้ได้ถูกรวบรวมและบันทึกไว้ในตำรายาไทยพื้นบ้านหลายๆ ตำรับ เช่น ตำราสรรพคุณยาของกรมหลวงวงศาธิราชสนิท ตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) เป็นต้น ถึงแม้ว่าจะมีการใช้พืชสมุนไพรในตำรายาเหล่านี้สำหรับการรักษามะเร็ง แต่หากอ้างอิงข้อเท็จจริงทางวิทยาศาสตร์แล้ว สรรพคุณดังกล่าวขึ้นกับคุณสมบัติของพืชชนิดๆ หรือสารสำคัญที่มีในพืชสมุนไพรเหล่านั้น แต่อย่างไรก็ตามพืชสมุนไพรที่ปรากฏในตำรายาไม่ได้ระบุสารสำคัญและกลไกการออกฤทธิ์ ซึ่งการไม่มีข้อมูลสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ทำให้พืชสมุนไพรไม่เป็นที่นิยมอย่างเป็นสากล และพืชสมุนไพรหลายชนิดยังคงเป็น “พืชที่เชื่อว่าเป็นยา” และในการศึกษาวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้เล็งเห็นผลความสำคัญดังกล่าวจึงต้องการศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็งของพืชสมุนไพรในตำรายานี้ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพของผู้คนในสังคมและเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรให้มากยิ่งขึ้น

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดที่อยู่ในตำรายากินที่ใช้รักษามะเร็งจำนวน 6 ตำรับของตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) วัดปากคลองมะขามเฒ่า อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท คือ กุ่มน้ำ กุ่มบก ชันทองพยับบาท ข้าวเจ้า ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ เตยทั้งก่อน พริกขี้หนู พลู มะเกลือ มะเฟือง สับปะรด และหนอนตากหยาก โดยเตรียมสารสกัดหยาบชั้นน้ำของพืชสมุนไพรเหล่านี้ แล้วทำการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ด้วยวิธีทดสอบต่าง ๆ คือ 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) free radical decolorization assay, oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay,

superoxide radical scavenging assay และ nitric oxide scavenging assay ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 (cyclooxygenase-2) และ ฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ฮีโมออกซีจีเนส-1 (heme oxygenase-1) จากนั้นจึงทำการประเมินฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็งของสมุนไพรเหล่านี้เพื่อคัดเลือกสมุนไพรเพียงชนิดเดียวที่ให้ฤทธิ์โดยรวมเหมาะสมที่สุดเพื่อทำการศึกษาแยกสกัดหาสารสำคัญในสมุนไพรนั้นโดยใช้เทคนิคทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ABTS free radical decolorization assay พบว่า ค่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ของสารสกัดหยาบมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0513-3.5381 (mg trolox/ gm extract) โดยสารสกัดหยาบจากใบของพลูมีค่า TEAC มากที่สุด (3.5381) และ สารสกัดหยาบจากเมล็ดของข้าวเปลือกเจ้ามีค่า TEAC น้อยที่สุด (0.0513) โดยพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ดีสามอันดับแรก คือ พลู (3.5381) ทังถ่อน (2.3562) และหนอนตายหยาก (1.6838) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ORAC พบว่าค่า Trolox Equivalent (TE) ของสารสกัดหยาบมีค่าอยู่ระหว่าง 215.98-5,515.98 (μ mole trolox / gm extract) โดยสารสกัดหยาบจากใบของพลูมีค่า TE มากที่สุด (5,515.98) และ สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรดมีค่า TE น้อยที่สุด (215.98) โดยพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ดีสามอันดับแรก คือ พลู (5,515.98) หนอนตายหยาก (2,810.99) และทังถ่อน (2,366.21) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย nitric oxide scavenging activity assay พบว่า มีสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์เพียง 12 ชนิด โดยมีค่า IC_{50} มีค่าอยู่ระหว่าง 9.23-49.08 μ g/mL โดยสารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหยาก มีฤทธิ์ดีที่สุด มีค่า IC_{50} น้อยที่สุด (9.23 μ g/mL) และ สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรดมีฤทธิ์ต่ำที่สุด มีค่า IC_{50} มากที่สุด (49.08 μ g/mL) โดยพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ดีสามอันดับแรก คือ หนอนตายหยาก (9.23) ทังถ่อน (11.32) และกุ่มบก (12.32) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย superoxide radicals scavenging activity assay พบว่ามีสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์จำนวน 8 ชนิด โดยค่า IC_{50} มีค่าอยู่ระหว่าง 27.96 -106.73 μ g/mL โดยสารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหยาก มีฤทธิ์ดีที่สุด มีค่า IC_{50} น้อยที่สุด (27.96 μ g/mL) และ สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรดมีฤทธิ์ต่ำที่สุด มีค่า IC_{50} มากที่สุด (106.73 μ g/mL) โดยพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ดีสามอันดับแรก คือ หนอนตายหยาก (27.96) ข้าวเย็นใต้ (41.53) และพลู (42.64) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 พบว่าสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) ตั้งแต่ 0 – 81.12 แต่การพิจารณาว่าสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์นี้ต้องมี % inhibition มากกว่า 50 ดังนั้นจึงมีเพียงสารสกัดหยาบจากใบของพลูเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (% inhibition = 81.12) ส่วนการทดสอบฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 พบว่าสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ทดสอบที่ความเข้มข้น 3 ระดับ (10, 50, 100 μ g/ml) มีค่าเหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 นี้ที่แตกต่าง ระหว่าง 2.84 – 4.19 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (0.74 เท่า)

ดังนั้นจากผลการทดสอบฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งโดยศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจำนวน 4 วิธี ด้วย ABTS free radical decolorization assay, ORAC assay, nitric oxide scavenging activity assay และ superoxide radicals scavenging activity assay, ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์

cyclooxygenase-2 และฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 ข้างต้น ทางผู้วิจัยได้คัดเลือกสมุนไพรพลูสำหรับการแยกหาสารสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งดีที่สุดเพียงชนิดเดียว เนื่องจากสารสกัดหยาบชั้นน้ำของพลูมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีปานกลางถึงดีมากในทั้ง 4 วิธีทดสอบ และฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 รวมถึงพลูเป็นสมุนไพรเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2

ในการศึกษาการแยกหาสารสำคัญของใบพลู ทำโดยเตรียมสารสกัดชั้นน้ำของใบพลูด้วยวิธีต้มใบพลูในน้ำเดือด แล้วทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน (hexane) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และเอทิลอะซิเตต (ethylacetate) ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จำนวน 4 ชนิด คือ สารสกัดเฮกเซน สารสกัดคลอโรฟอร์ม สารสกัดเอทิลอะซิเตต และสารสกัดน้ำ ไปตรวจสอบหาสารเคมีองค์ประกอบด้วยวิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography) พบว่า สารสกัดหยาบนี้ประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีหลัก คล้ายกับสารละลายในน้ำต้มเดือดของใบพลูก่อนที่จะสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และมีปริมาณสารเหมาะสม ดังนั้นทางผู้วิจัยได้เลือกสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มของใบพลูมาแยกหาสารสำคัญที่มีฤทธิ์โดยอาศัยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ทำให้ได้สารองค์ประกอบทางเคมีหลักที่บริสุทธิ์ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำเหลืองน้ำตาล โดยมีร้อยละปริมาณสารเท่ากับ 1.69% จากการพิสูจน์หาโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญที่แยกได้ทำโดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ พบว่าข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารสำคัญที่แยกได้มีความสอดคล้องกันดีกับข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของ hydroxychavicol ที่มีรายงานมาก่อน จึงสรุปได้ว่าสารสำคัญที่แยกได้ คือ hydroxychavicol ดังนั้นคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของใบพลู อาจเป็นผลส่วนหนึ่งมาจากมีองค์ประกอบหลักทางเคมีเป็น hydroxychavicol ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ที่ดี

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 แผนภาพแสดงการเตรียมสารสกัดหยาบพลู	29
รูปที่ 2 HPLC Chromatogram ของสารละลายใสในน้ำต้มเดือดของใบพลู	32
รูปที่ 3 HPLC Chromatogram ของสารสกัดหยาบเฮกเซนของใบพลู	32
รูปที่ 4 HPLC Chromatogram ของสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มของใบพลู	33
รูปที่ 5 HPLC Chromatogram ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของใบพลู	33
รูปที่ 6 HPLC Chromatogram ของสารสกัดหยาบน้ำของใบพลู	34
รูปที่ 7 ^1H -NMR spectrum ของ PB64	37
รูปที่ 8 ^{13}C -NMR spectrum ของ PB64	38
รูปที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของของ hydroxychavicol	39

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	รายชื่อพืชสมุนไพรและส่วนของพืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษา
	19
ตารางที่ 2	น้ำหนักของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	20
ตารางที่ 3	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ABTS free radical decolorization assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	21
ตารางที่ 4	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Oxygen radical absorbance capacity assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	23
ตารางที่ 5	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Nitric oxide scavenging activity assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	24
ตารางที่ 6	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Superoxide radicals scavenging activity assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	25
ตารางที่ 7	ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	26
ตารางที่ 8	ฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคทีวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	27
ตารางที่ 9	การเปรียบเทียบฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งด้วยวิธีต่าง ๆ ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด
	29
ตารางที่ 10	น้ำหนักของสารสกัดหยาบของใบพลู
	30
ตารางที่ 11	ลักษณะและน้ำหนักของ fractions ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มของใบพลูโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี
	35
ตารางที่ 12	ลักษณะและน้ำหนักของ fractions ที่ได้จากการแยก fraction PB6 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี
	35

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 13 ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารบริสุทธิ์	39
ตารางที่ 14 การกำหนดตำแหน่งของข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของ PB64 บนโครงสร้างทางเคมีของ hydroxychavicol	40
ตารางที่ 15 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ PB64	40

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

AAPH	=	2,2'-azo-bis, 2-amidinopropane
ABTS	=	2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate
COX-2	=	cyclooxygenase-2
d	=	doublet
dd	=	doublet of doublet
DMEM	=	dubelcco's modified eagle medium
FCS	=	fetal calf serum
gm	=	gram
HO-1	=	heme oxygenase-1
HPLC	=	high performance liquid chromatography
H ₃ PO ₄	=	phosphoric acid
Hz	=	hertz
IC ₅₀	=	50% inhibition concentration
<i>j</i>	=	coupling constant
m	=	multiplicity
mL	=	microliter
mM	=	millimolar
NADP	=	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH	=	reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NBT	=	nitobblue tetrazolium
nm	=	nanometer
NMR	=	nuclear magnetic resonance
NO	=	nitric oxide
ORAC	=	oxygen radical absorbance capacity
PBS	=	phosphate buffer saline
ppm	=	part per million
SNP	=	sodium nitroprusside
TE	=	trolox equivalent
TEAC	=	trolox equivalent antioxidant capacity
TLC	=	thin layer chromatography
δ	=	chemical shift

บทที่ 1

บทนำ

การแพทย์แผนโบราณเป็นวัฒนธรรมการดูแลสุขภาพที่อยู่คู่สังคมไทยมาตั้งแต่ก่อนอาณาจักรสุโขทัย และอยุธยา และเป็นที่ยอมรับว่าสามารถแก้ปัญหาสุขภาพได้ระดับหนึ่ง และในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาเนื่องจากการอนามัยโลก (WHO) ได้ให้ความสนใจและยอมรับบทบาทของการแพทย์แผนโบราณที่มีต่อการสาธารณสุขมูลฐานของประเทศต่างๆ มากยิ่งขึ้น ประเทศไทยมีทรัพยากรทางธรรมชาติอุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง พืชสมุนไพรเป็นจำนวนมากจึงได้นำมาใช้ในการแพทย์แผนโบราณเพื่อการดูแลสุขภาพของผู้คนในสังคมไทย ดังเช่นใช้รักษาความเจ็บป่วยโรคต่าง ๆ เช่น เบาหวาน ท้องร่วง ความดันโลหิต หัวใจ มะเร็ง เป็นต้น แต่ทั้งนี้การแพทย์แผนโบราณเป็นการเรียนและสืบทอดความรู้ในการรักษา โดยบางครั้งยังขาดการยืนยันข้อเท็จจริงทางวิทยาศาสตร์ซึ่งนับวันองค์ความรู้ที่สั่งสมสืบทอดมานี้จะยิ่งสูญหาย ทั้งๆ ที่เกิดจากภูมิปัญญาท้องถิ่นและเป็นผลผลิตที่มีคุณค่าใกล้ตัวผู้คนในสังคม ซึ่งภาครัฐควรให้ความสนใจส่งเสริมให้เห็นคุณค่าและความสำคัญ โดยผลการศึกษาทางวิทยาศาสตร์จะช่วยสนับสนุนนโยบายรัฐในการปรับโครงสร้างเศรษฐกิจให้สมดุลและแข่งขันได้ โดยนับเป็นการส่งเสริมการวิจัยและพัฒนานวัตกรรมและเทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพร ควบคู่ไปกับภูมิปัญญาท้องถิ่นเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน

มะเร็งเป็นโรคที่ก่อให้เกิดปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญของทุกประเทศรวมทั้งประเทศไทยด้วย โรคมะเร็งจัดเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้นๆ ของคนไทย การรักษาโรคมะเร็งโดยยาเคมีบำบัดนั้นมีราคาแพงมากและต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ประเทศไทยต้องสูญเสียดุลการค้าเป็นจำนวนมาก ยาเคมีบำบัดที่ใช้อยู่ในปัจจุบันอาจได้มาจากการสังเคราะห์ หรือจากแหล่งธรรมชาติ เช่น วินคริสติน (vincristine) และ วินบลาสติน (vinblastine) ซึ่งได้มาจากต้นแพงพวยฝรั่ง (1) ในการแพทย์แผนโบราณของประเทศไทยได้มีการใช้พืชสมุนไพรจำนวนมากสำหรับการรักษามะเร็ง ซึ่งข้อมูลการใช้ประโยชน์ของพืชสมุนไพรเหล่านี้ได้ถูกรวบรวมและบันทึกไว้ในตำรายาไทยพื้นบ้านหลาย ๆ ตำรับ เช่น ตำราสรรพคุณยาของกรมหลวงวงศาธิราชสนิท ตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) เป็นต้น ถึงแม้ว่าตำรายาต่าง ๆ ได้มีการใช้สำหรับการรักษาความเจ็บป่วยอย่างแพร่หลาย แต่ก็ไม่ได้มีการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ถึงประสิทธิผลของพืชสมุนไพรในตำรายานี้ หากมีข้อพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ว่าใช้ได้จริงแล้ว พืชสมุนไพรเหล่านี้อาจเป็นแหล่งของยารักษามะเร็งในอนาคตได้

ขบวนการก่อมะเร็ง (carcinogenesis) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก (2) คือ

1. Initiation เป็นขั้นตอนที่เซลล์ปกติในร่างกายได้รับสารก่อมะเร็ง แล้วทำให้เกิดความเสียหายแก่ DNA
2. Promotion เป็นขั้นตอนที่เนื้อเยื่อเสียหายลุกลามเปลี่ยนเป็นเนื้องอกชนิด premalignant ซึ่งระยะนี้จะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ อาจใช้ระยะเวลาหลาย ๆ ปี
3. Progression เป็นระยะสุดท้ายซึ่งมีการแพร่กระจายของมะเร็งไปสู่อวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับขบวนการก่อกำเนิดมะเร็งทั้งในระดับเซลล์และโมเลกุลทำให้มีการค้นคว้าและพัฒนาหาสารป้องกันการเกิดมะเร็ง (chemopreventive agent) ซึ่งหมายถึง สารเคมีที่ได้จาก

ธรรมชาติหรือสังเคราะห์ ที่สามารถหยุด ยับยั้ง หรือ หมุนกลับ (reverse) ในขบวนการก่อมะเร็งในระยะแรกเริ่มได้ (3)

สารป้องกันการเกิดมะเร็ง อาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. Blocking agents สารกลุ่มนี้จะต้านขบวนการก่อมะเร็งในระยะ Initiation ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ต่าง ๆ เช่น ยับยั้งการรับสารก่อมะเร็งเข้าสู่ร่างกาย กำจัด reactive oxygen species ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 หรือ กระตุ้น detoxifying enzymes เช่น glutathione-S-transferase, heme oxygenase-1 เป็นต้น

2. Suppressing agents สารกลุ่มนี้จะยับยั้งขบวนการก่อมะเร็งในระยะ promotion และ progression ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ต่าง ๆ เช่น ควบคุมการควบคุม cell cycle ควบคุม signal transduction หรือ กระตุ้น apoptosis เป็นต้น

งานวิจัยหลายชิ้นได้รายงานถึงสารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดมะเร็งในหลอดทดลอง และสัตว์ทดลอง เช่น curcumin, quercetin, resveratrol, flavonoids, sulforaphane เป็นต้น (4) และสารหลายตัวดังกล่าวข้างต้นได้มีการทดลองทางคลินิกถึงประสิทธิผลในการป้องกันการเกิดมะเร็งในคน (3) ซึ่งหากผลการทดลองออกมาดีอาจนำไปสู่การพัฒนาสำหรับโรคมะเร็งได้ ประเทศไทยซึ่งมีความได้เปรียบในด้านที่มีทรัพยากรทางธรรมชาติอุดมสมบูรณ์ มีพืชสมุนไพรหลากหลาย ดังนั้นการอาศัยความรู้ด้านพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้รักษามะเร็งสามารถใช้เป็นแหล่งข้อมูลแหล่งหนึ่งในการค้นคว้าเพื่อพัฒนาสำหรับโรคมะเร็งได้

พืชสมุนไพรพื้นบ้านได้ถูกรวบรวมและบันทึกไว้ในตำรายาไทยพื้นบ้านหลาย ๆ ตำรับ เช่น ตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) วัดปากคลองมะขามเฒ่า อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท (5) ซึ่งในตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) ได้แสดงสรรพคุณของตำรับยาที่ใช้รักษามะเร็งจำนวน 7 ตำรับ ดังนี้

ขนานที่ ๑ ท่านให้เอา หัวยาข้าวเย็นหน่อ ๑ หัวยาข้าวเย็นใต้ ๑ กำมะถันเหลือง ๑ ตัวยาทั้ง ๓ อย่างนี้ เอาหนักอย่างละ ๔ บาทเท่ากัน กะลามาพรวนแก่ (ผ่าเป็น ๔ ส่วน เอา ๓ ส่วน) ตัวยาทั้ง ๔ อย่างนี้นำมาใส่หม้อดินต้มกับน้ำพอสมควร ใช้น้ำยารับประทานต่างน้ำชา จนน้ำยาจืด มีสรรพคุณแก้โรคมะเร็งได้ผลดีอย่างชะงัดนักแล เคยใช้หายมามากแล้ว

ขนานที่ ๒ ท่านให้เอา กระตู่กู่เห่า ๑ หัวข้าวเย็นหน่อ ๑ หัวข้าวเย็นใต้ ๑ ทั้งถ่อน ๑ แก่นมะเกลือ ๑ มะเดื่อปล้อง ๑ ตัวยาทั้ง ๖ อย่างนี้ เอาหนักอย่างละเท่า ๆ กัน นำมาใส่หม้อดินต้มกับน้ำพอสมควร ใช้น้ำยารับประทานครั้งละ ๑ ถ้วยชา เวลาก่อนอาหาร วันละ ๓ ครั้ง มีสรรพคุณแก้โรคมะเร็งทุกอย่าง เป็นยาตัดรากโรคมะเร็งให้หายขาด เคยใช้หายมามากแล้ว ได้ผลดีอย่างชะงัดนักแล

ขนานที่ ๓ ท่านให้เอา ใบต้นหนอนตากอยาก หนัก ๑ บาท เปลือกต้นกุ่มหนัก ๑ บาท หัวข้าวเย็นหน่อ หนัก ๑ บาท หัวข้าวเย็นใต้ หนัก ๑ บาท ดินประสิว หนัก ๒ สลึง สารส้ม หนัก ๑ บาท

กำมะถัน หนัก ๑ บาท ด้วยยาทั้ง ๗ อย่างนี้ นำมาใส่หม้อดินต้มกับน้ำพอสมควร ใช้น้ำยารับประทานครั้ง ละ ๑ ถ้วยชา เวลาเช้า-กลางวัน-เย็น วันละ ๓ ครั้ง ประมาณ ๓๐ วัน มีสรรพคุณแก้โรคมะเร็งในกระดุก ได้ผลดีอย่างชะงัดนักแล ฯ

ขนานที่ ๔ ท่านให้เอา ต้นพลูแก่ ๆ (พลูกินกับหมาก) ใบพลูแก่ ๆ ๑ ดอกพลู ๑ รากพลู ๑ ด้วยยาทั้ง ๔ อย่างนี้ เอาหนักอย่างละเท่า ๆ กัน นำมาล้างน้ำให้สะอาด ใส่หม้อดินต้มกับน้ำพอสมควร ใช้น้ำยารับประทาน เวลาเช้า-เย็น วันละ ๒ ครั้ง มีสรรพคุณแก้โรคมะเร็งทุกอย่าง ได้ผลดีอย่างชะงัดนักแล ฯ

ขนานที่ ๕ ท่านให้เอา ลูกลำโพงกลั๊ก (ลูกแก่ ๆ) ๑ ลูกกระเบา (ลูกแก่ ๆ เอาเฉพาะเมล็ด ใน) ๑ ขมิ้นอ้อย ๑ ยางไม้ตะเคียน ๑ ด้วยยาทั้ง ๔ อย่างนี้ เอาหนักอย่างละเท่า ๆ กัน นำมาตากแดดให้แห้ง บดเป็นผง หุงด้วยน้ำมันงา บนเตาเคลบ (ใช้เคลบเป็นเชื้อเพลิง) ใช้ทารักษาแผลมะเร็งผิวหนัง ภายนอก หรือ ใช้ทารักษาแผลเชื้อราทุกชนิด ได้ผลดีอย่างชะงัดนักแล ฯ

ขนานที่ ๖ ท่านให้เอา รากต้นเตย ๑ หัวจุกสับปะรด ๑ รากต้นมะเฟือง ๑ หัวข้าวเย็นหนือ ๑ หัวข้าวเย็นใต้ ๑ ข้าวเปลือกข้าวเจ้า ๑ ด้วยยาทั้ง ๖ อย่างนี้ เอาหนักอย่างละเท่า ๆ กัน นำมาใส่หม้อ ดินต้มกับน้ำพอสมควร ใช้น้ำยารับประทานครั้งละ ๑ ถ้วยชา มีสรรพคุณแก้โรคมะเร็ง ซึ่งผู้ป่วยมีอาการ ท้องอืด รับประทานอาหารไม่ได้ เป็นมาเวลานานแล้ว เมื่อรับประทานยานี้แล้วจะทำให้หายอาการป่วย นั้น เคยใช้รักษาได้ผลดีมากมาแล้ว ฯ

ขนานที่ ๗ ท่านให้เอา หัวข้าวเย็นทั้ง ๒ (คือ หัวข้าวเย็นหนือ ๑ หัวข้าวเย็นใต้ ๑) กระดุก ควายเผือก ๑ กำมะถันเหลือง ๑ ชันทองพยาบาท ๑ หัวต้นหนอนตายอยาก ๑ ด้วยยาทั้ง ๖ อย่างนี้ เอาหนักอย่างละ ๒๐ บาทเท่ากัน เถ้าสับปะรด หนัก ๑๐ บาท กระดุกม้า หนัก ๔ บาท ต้นพริกขี้หนู ๑ ต้น (เอาทั้งต้นตลอดถึงราก) ผิวไม้รวก (ขูดเฉพาะผิว) ๓ กำมือ ด้วยยาทั้ง ๑๐ อย่างนี้ นำมาใส่หม้อดิน ต้มกับน้ำพอสมควร ใช้น้ำยารับประทานครั้งละ ๑ ถ้วยชา เวลาหลังอาหาร วันละ ๓ ครั้ง มีสรรพคุณแก้ โรคมะเร็ง แก้อโรคแผลกลาย แก้อโรคฝีทุกชนิด แก้อโรคไอ แก้อโรคเลือดออกจากหลอดลม รักษาแผลใน หลอดลม แผลในลำไส้ ได้ผลดีอย่างชะงัดนักแล ฯ

ลักษณะทั่วไปทางพฤกษศาสตร์ สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน องค์ประกอบทางเคมี รวมถึงฤทธิ์ทาง ชีวภาพของพืชสมุนไพรบางชนิดที่ใช้ในตำรับยาในตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวง ปู่สุข) มีรายละเอียดดังนี้

1. กุ่มน้ำ (Kum-nam กุ่ม อำเภอบาง) (6)

กุ่มน้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Crataeva magna* (Lour.) DC. เป็นพืชในวงศ์ Capparaceae มีลักษณะ ต้นเป็นไม้ยืนต้นสูงได้ถึง 20 เมตร เปลือกต้นค่อนข้างเรียบ สีเทา ใบประกอบแบบนิ้วมือ ออกเรียง สลับ ใบย่อยมี 3 ใบ รูปรีหรือรูปไข่ กว้าง 2.5-7 เซนติเมตร ยาว 5.5-16 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม

โคนใบสอบ ขอบใบเรียบ ใบย่อยที่อยู่ด้านข้างโคนใบเบี้ยวเล็กน้อย แผ่นใบเรียบ สีเขียว ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ช่อดอกยาว 10-16 เซนติเมตร ติดดอก 20-60 ดอก ดอกสีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลือง กลีบเลี้ยงมี 4 กลีบ ขนาดเล็กกลีบดอกบางมี 4 กลีบ รูปไข่กลบ โคนสอบ ก้านเกสรสีม่วงยาวมี 15-25 อัน ผลเป็นผลสด รูปรี เปลือกหนามีสะเก็ดบาง ๆ หลุดไปเอง เมล็ดรูปเกือบกลมมีหลายเมล็ด

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน เปลือกเป็นยาระงับพิษที่ผิวหนัง แก้ไข้ ขับน้ำเหลืองเสีย เป็นยาบำรุง ขับน้ำดี ขับนิ่วในทางปัสสาวะ แก้อาเจียน ใบเป็นยาเจริญอาหาร ยาระบาย ยาบำรุง แก้ไข้ ขับพยาธิ แก้ปวดเส้น เป็นอัมพาต โรคไขข้ออักเสบ ขับเหงื่อ ดอกเป็นยาแก้เจ็บคอ ใช้ครั้งเนื้อครั้งตัว

องค์ประกอบทางเคมี triterpenes (7)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ antioxidant (7) anti-arthritic (8), hepatoprotective (8)

2. กุ่มบก (Kum-bok ผักก้าม) (6)

กุ่มบก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Crataeva adansonii* DC. ssp. *trifoliata* (Roxb.) Jacobs. เป็นพืชในวงศ์ Capparaceae เป็นไม้ต้น สูง 15-20 เมตร เปลือกต้นสีน้ำตาลอ่อน กิ่งก้านมักคดงอ ใบประกอบแบบนิ้วมือ ออกเรียงสลับ ใบย่อยมี 3 ใบ รูปรีหรือรูปไข่ กว้าง 2-6 เซนติเมตร ยาว 2-10 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบสอบ ขอบใบเรียบ ใบย่อยที่อยู่ด้านข้างโคนใบเบี้ยว หลังแผ่นใบเรียบ สีเขียว เนื้อใบหนา ก้านใบยาว 7-9 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อกระจุกตามซอกใบและปลายยอด ดอกสีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือสีชมพู กลีบเลี้ยงมี 4 กลีบ กลีบดอกมี 4 กลีบ เกสรเพศผู้สีม่วงมีจำนวนมาก ผลรูปทรงกลม ผิวมีจุดสีน้ำตาลอมแดง เปลือกแข็ง ผลอ่อนสีเขียว สุกเป็นสีแดง เมล็ดมีหลายเมล็ด

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน รากมีรสร้อน แก่มากระษัยที่เกิดจากกองลม เปลือกต้นมีรสร้อน ใช้ขับลม แก้ปวดท้อง ลงท้อง ขับผายลม แก่บวม บำรุงธาตุ คุมธาตุ กระตุ้นลำไส้ให้ย่อยอาหาร บำรุงหัวใจ ทาแก้โรคผิวหนัง เป็นยาระงับประสาท แก่มีรสร้อน แก่ริดสีดวงผอมเหลือง กระพี้มีรสร้อน ช่วยทำให้ขี้หูแห้งออกมา ใบมีรสร้อน ฆ่าพยาธิ ขับลม แก่กลากเกลื้อน แก่ตานขโมย

องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพ ไม่พบข้อมูล

3. ขันทองพยาบาท (Khan-thong-pha-ya-bat ข้าวตาก ขุนตง ดูกหิน ขันทองพยาบาทเครือ มะดูก เหลื่อม ขันทอง ดูกใส กระตูก ขุนทอง) (6)

ขันทองพยาบาท มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Suregada multiflora* เป็นพืชในวงศ์ Euphobiaceae เป็นไม้ต้น สูง 8-15 เมตร เปลือกต้นสีน้ำตาลแตกเป็นร่องตื้น ๆ สามยาว กิ่งห้อยลู่ลง ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปรีแกมรูปขอบขนาน กว้าง 3-8 cm ยาว 7-20 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบแหลม ขอบใบเรียบ แผ่นใบสีเขียวเรียบลื่นเป็นมัน ก้านใบยาว 0.2-0.8 เซนติเมตร มีหูใบและหลอดรวงง่าย ดอกแยกเพศ ออกเป็นช่อตรงข้ามกับใบ ดอกสีเหลือง ไม่มีกลีบดอก ดอกเพศผู้มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ ไม่มีกลีบดอก เกสรตัวผู้จำนวนมาก ดอกเพศเมียมีกลีบเลี้ยง 5-6 กลีบ ยอดเกสรเพศเมียแยกออก ผลรูปทรงกลม ขนาด 1.5 เซนติเมตร ผิวเรียบแบ่งออกเป็น 3 พู ผลอ่อนสีเขียวพอแก่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม แตกออกได้เมล็ดรูปรี สีน้ำตาลเข้ม

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน เปลือกมีรสเมาเบื่อ แก้ลมเป็นพิษ แก้ประดง แก้พิษในกระดุก ฆ่าพยาธิ ใช้บำรุงเหงือก แก้กกลากเกลื้อน แก้โรคเรื้อน โรคผิวหนังทุกชนิด แก้กามโรค แก้โรคตับพิการ เนื้อไม้รักษาอาการพิษในกระดุก ประดง รักษาโรคเรื้อน กลากเกลื้อน โรคผิวหนังทุกชนิด และกามโรค

องค์ประกอบทางเคมี diterpenoids (9)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ anti-inflammation(10) anti-herpes simplex virus (11) anti-tumor(12) anti-allergic (13)

4. ข้าวเจ้า (Khao-jao ข้าวไข่แมงดา ข้าวเจ้า ข้าวสาร) (14)

ข้าวเจ้า มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* Linn. เป็นพืชในวงศ์ Gramineae เป็นพืชล้มลุกขึ้นเป็นกอ ลำต้นกลวงเป็นข้อ ดอกออกช่อดอกรวมเรียกว่า รวงข้าว เมล็ดอ่อนมีสีเขียว เมื่อโตเต็มที่มีสีเหลืองทอง

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน ต้นช่วยย่อยอาหาร บำรุงชูกำลัง แก้อ่อนเพลีย เปลือก แก้โรคเหน็บชา รักษาเบาหวาน เมล็ดพอกแก้ลมพิษ แก้คัน บำรุงกำลัง แก้อ่อนเพลีย ช่วยเจริญอาหาร บำรุงร่างกาย แก้โรคเหน็บชา แก้พิษอักเสบ ชงข้าวแก้พิษร้อนใน น้ำข้าวข้าวแก้สิว แก้ไอ แก้พิษอักเสบ แก้บวม แก้ลมพิษ แก้คัน แก้ร้อนใน

องค์ประกอบทางเคมี tricin (15), ferulic acid (16), isovitexin (17)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ anti-tumor (15,16), antioxidant (17), anti-inflammation (18)

5. ข้าวเย็นเหนือ (Khao-yen-nuea ข้าวเย็นโคกแดง ยาหัวข้อ ค้อนกระแต หัวยาจีนปักษ์เหนือ เสียมโกฮก) (14)

ข้าวเย็นเหนือ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Smilax corbularia* Kunth เป็นพืชในวงศ์ Smilacaceae เป็นไม้เถาเล่งหัว เถามีหนาม ใบรูปหัวใจ โดเหมือนใบกลอย หัวเนื้อสีน้ำตาลแดง เนื้อค่อนข้างแข็ง เกิดอยู่ตามป่าเขา ส่วนมากเก็บมาจากป่าทางเหนือ จึงเรียกว่า ข้าวเย็นเหนือ เกิดตามป่าดงดิบ ป่าเบญจพรรณ ป่าโปร่งทั่วทุกภาค

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน รากแก้ น้ำเหลืองเสีย แก้ผื่นคันพุพอง แก้พยาธิต่าง ๆ หัวแก้พยาธิต่าง ๆ แก้ปัสสาวะพิการ แก้ น้ำเหลืองเสีย แก้มะเร็งคุดทะราด แก้ร้อนในกระหายน้ำ ขับปัสสาวะ รักษาโรคผิวหนังต่าง ๆ ต้นแก้ไข้เรื้อรัง ไข้ตัวร้อน

องค์ประกอบทางเคมี flavonoids (19), stilbenes tricin (19)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ anti-HIV (20)

6. ข้าวเย็นใต้ (Khao-yen-tai ข้าวเย็นโคกขาว ยาหัวข้อ หัวยาจีนปักษ์ใต้ เตียวโกฮก) (14)

ข้าวเย็นใต้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Smilax glabra* Roxb. เป็นพืชในวงศ์ Smilacaceae เป็นไม้เถาเล่งหัว เถามีหนาม ใบโตเหมือนใบกลอย เกิดตามป่าดงดิบเขา ป่าโปร่งทั่วทุกภาคที่เกิดในประเทศไทย ในป่าที่มีความชุ่มชื้นน้อย หัวจะเล็ก เนื้อแข็ง สีขาวอมเหลือง เรียกว่า ข้าวเย็นโคก

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน รสมันกร่อยหวานเล็กน้อย แก้ประดง คุดทะราด แก้น้ำเหลืองเสีย แก้เส้นเอ็นพิการ แก้กามโรค ออกดอก เข้าข้อผีแผลเน่าพุพอง เม็ดผื่นคัน ตับพิษในกระตูด แก้ปัสสาวะพิการ นิยมใช้เป็นยาแก้ไอเสปในร่างกาย

องค์ประกอบทางเคมี flavonols (21), phenylpropanoids (22), flavonones (23)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ anticancer (24), antiviral (25), antiproliferative (25,26), Anti-HIV-1 (20), Immunomodulatory activity (27), hypoglycemia (28)

7. เตยหอม (Toei-hom) (6)

เตยหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pandanus amaryllifolius* Roxb. เป็นพืชในวงศ์ Pandanaceae เตยหอมเป็นไม้พุ่ม สูง 60 เซนติเมตร โคนต้นมีเนื้อไม้แข็ง ลำต้นแตกแขนงเป็นกอ ต้นใหญ่จะมีรากค้ำใบ เป็นใบเดี่ยว ออกเรียงเวียนหนาแน่นใกล้ปลายยอด รูปขอบขนาน ยาว 16 – 25 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ขอบใบมีหนาม มีกลิ่นหอมเย็น แผ่นใบเรียบสีเขียวเป็นมัน ดอกแยกเพศอยู่ต่างต้น เป็นช่อดอกย่อยจำนวนมาก เป็นพืชที่ออกดอกยาก

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน รากและต้นมีรสหวานเย็นหอม แก้กระษัย ไตพิการ ขับปัสสาวะ แก้ไข้พิษร้อน แก้พิษตานซาง แก้อ่อนในกระหายน้ำ นำต้นและรากมาต้มกับน้ำดื่มหรือไม้สัก กินน้ำ ช่วยแก้โรคเบาหวาน ใบมีรสหวานเย็นหอม บำรุงหัวใจ ตับพิษไข้ ชูกำลัง เนื่องจากใบมีกลิ่นหอม ใช้ผสมอาหารหรือขนมให้มีสีเขียวและมีกลิ่นหอม

องค์ประกอบทางเคมี alkaloids (29,30), protein (31)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ antiviral (32), anticancer (33)

8. ทิ้งถ่อน (Thing-thon ถ่อน พญาช้างเผือก พญาจันทน์ ถิ่นถ่อน เซะบ้อง ส่วน นมหวาน นุ่มกวา white siris) (34)

ทิ้งถ่อนมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Albizia procera* (Roxb.) Benth. เป็นพืชในวงศ์ Leguminosae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ต้นสีน้ำตาลอ่อนนวล ๆ มีกระขวงเล็ก ๆ ใบประกอบเหมือนใบชี่เหล็ก แต่สีอ่อนกว่า ดอกเหมือนดอกต้นกำมกราม ผักแบนยาว เกิดตามป่าเบญจพรรณทั่วไป

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน ใบรสเผื่อนร้อน เผาไฟ ผสมกับน้ำใบยาสูบและน้ำปูนขาวฆ่าแมลง เปลือกต้นรสฝาดร้อน แก้เลือดลมในกองธาตุ แก้ลมป่วง แก้บิดมูกเลือด แก้โรคผิวหนัง เจริญอาหาร ขับผายลม แก้อ่อนชื้นอืดเฟ้อ บำรุงธาตุ แก้อาการพิษ ต้มกับรากมะตูม แก้อาเจียน แก้อ่อนร่วง เป็นยาอายุวัฒนะ แก่นและรากรสขมร้อน ต้มดื่ม แก้ปวดหลังปวดเอว เส้นตึงแก้อ่อนอืด

องค์ประกอบทางเคมี triterpenoids(35), saponin (36)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ anticancer (36,37)

9. พริกขี้หนู (Phrik-khi-nu ดีปลีขี้หนู พริกขี้หนุ พริกแด่ พริกแด่ พริกแด่หนู พริกนก หมักเพ็ด ดีปลี)

(6)

พริกขี้หนู มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum frutescens* L. var. *frutescens*. เป็นพืชในวงศ์ Solanaceae พริกขี้หนูเป็นไม้ล้มลุก สูง 0.3-1.2 เมตร โคนต้นแก่เนื้อไม้แข็ง แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มกลม กิ่งอ่อนเป็นเหลี่ยมหักง่าย ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปไข่ กว้าง 2-3.5 เซนติเมตร ยาว 3-8 เซนติเมตร ปลายใบแหลมโคนใบสอบ ขอบใบเรียบ แผ่นใบเรียบ สีเขียว เนื้อใบนุ่ม ดอกออกดอกเดี่ยวตามซอกใบ และปลายกิ่ง ก้านช่อดอกยาว 1.5-2 เซนติเมตร ดอกสีขาว สิบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกันปลายตัดหรือเป็นหยัก 5 หยัก กลีบดอกมี 5 แฉก โคนเชื่อมติดกัน เกสรเพศผู้มี 5 อัน ผลรูปกลมยาว ปลายรียาว 1-3 เซนติเมตร ผิวเรียบมัน ไม่มีเนื้อผล ผลอ่อนสีเขียวพอสุกเป็นสีส้มหรือสีแดง มีรสเผ็ดหอม เมล็ดกลมแบน สีเหลืองอ่อนมีจำนวนมาก

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน เมล็ดพริกสด รักษาโรคหิวาตกโรค ผลนอกจากจะมีรสเผ็ดแล้วยังให้วิตามินเอและซีมาก ใช้ผสมเป็นยาขับลม ยาทาถอนปวด ลดการอักเสบ ช่วยเจริญอาหาร ขับเหงื่อ แก้ปวดเมื่อยดี แก้พิษสัตว์กัดต่อย และแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ

องค์ประกอบทางเคมี capsaicinoids (38), saponins (39)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ antifungal (39)

10. พลู (Plu ซีเกะ) (6)

พลู มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper betle* L. เป็นพืชในวงศ์ Piperaceae พลูเป็นไม้เถาเนื้อแข็ง มีรากงอกออกตามข้อสำหรับไต่ยึด มีข้อปล้องห่าง ๆ โป่งนูน ทั้งใบปรก ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับตามข้อใบ รูปหัวใจ กว้าง 8-12 เซนติเมตร ยาว 12-16 เซนติเมตร ปลายใบแหลมมีหางใบ โคนใบเว้า แผ่นใบเรียบ สีเขียว เป็นมัน มีกลิ่นเฉพาะและมีรสเผ็ด ดอกออกเป็นช่อแบบแกนห้อยลงที่ซอกใบ ดอกเล็กมากอัดแน่นอยู่บนแกน ดอกสีเหลืองนวลหรือสีขาว ผลเป็นผลมีเนื้อ รูปทรงกลม เบียดกันแน่นอยู่บนแกน

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน ใบมีรสเผ็ด แก้ปวดฟัน แก้ร้มนวด แก้กลิ้นปาก ขับลมในลำไส้ แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย ตำพอกแก้ปวดบวมฟกช้ำมาเชื้อโรคหนองฝี แก้อาการอักเสบของเยื่อจมูกและคอ แก้กกลาก ลมไฟทาบแก้ น้ำกัดเท้า แก้คัน แก้ลมพิษ ลมไฟนาบท้องเด็ก แก้ปวดท้อง น้ำคั้นจากใบสด เป็นยาขับลมและทาแก้ลมพิษ ขยี้หรือตำให้ละเอียดผสมเหล้าโรงเล็กน้อยทาที่เป็น รากใช้รักษาโรคเอดส์

องค์ประกอบทางเคมี hydroxychavicol (40,41), chavibetol (42), piperbetol (43), methylpiperbetol (43), piperol A (43), triterpenes (44)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ antifungal (40), antihyperuricemia (41), antioxidant (45,46), antimicrobial (46), anticancer (47), antimalarial (48), antilipidemia (49), anti-inflammation (50, 51), anti-allergic (52), antihyperglycemia (53,54)

11. มะเกลือ (Ma-kluea) (6)

มะเกลือ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Diospyros mollis* Griff. เป็นพืชในวงศ์ Ebenaceae มะเกลือเป็นไม้ต้นสูง 30 เมตร เปลือกต้นสีดำ แตกเป็นสะเก็ด กิ่งอ่อนและยอดอ่อนมีขนประปราย ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปไข่แกมรูปขอบขนาน กว้าง 2-3 เซนติเมตร ยาว 4-7 เซนติเมตร ปลายใบสอบ โคนใบมน ขอบใบเรียบ แผ่นใบเรียบลื่น สีเขียวเข้ม ใบอ่อนมีขน เส้นใบข้างมี 10-15 คู่ ดอกแยกเพศผู้คนละต้น ดอกเพศผู้ออกเป็นช่อสั้นตามซอกใบมี 3 ดอก กลีบดอกเชื่อมติดกัน เกสรเพศผู้มี 14-24 อัน ดอกเพศเมียออกเดี่ยวตามซอกใบ ดอกสีเหลืองใหญ่กว่าดอกผู้ กลีบเลี้ยงมี 4 กลีบ กลีบดอกมี 4 กลีบ ผลรูปทรงกลม ขนาด 1.4-2.2 เซนติเมตร ผิวเรียบเกลี้ยง มีกลีบเลี้ยงติดอยู่ที่ขั้วผล ผลอ่อนสีเขียว สุกเป็นสีเทาดำ เมล็ดสีน้ำตาล มีเนื้อเมล็ดเป็นวุ้นใส

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน ทั้งต้นมีรสฝาดเมา ขับพยาธิ แก้กษัย รากมีรสเบื่อเมา ฝนกับน้ำข้าวขาวกินแก้อาเจียน แก้ลมหน้ามือ แก้กระษัย แก้กิดสีดวงทวาร แก้พิษตานซาง ขับพยาธิ เปลือกต้นมีรสเมาฝาด แก้กระษัย ขับพยาธิ แก้พิษตานซาง แก่นมีรสฝาดเค็ม ขับพยาธิ แก้พิษตานซาง ผลมีรสขื่นเผื่อนฝาดเบื่อ กินขับพยาธิในลำไส้ และพยาธิทุกชนิด ถ้ายานซาง ถ้ายกระษัย

องค์ประกอบทางเคมี diospyrol (55,56)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ antihelmintic (57, 58)

12. มะเฟือง (Ma-feung เฟือง สะปือ) (34)

มะเฟือง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Averrhoa carambola* Linn. เป็นพืชในวงศ์ Averrhoaceae เป็นไม้ยืนต้น ขนาดกลาง สูงถึง 10 เมตร แตกกิ่งก้านสาขามาก ลำต้นสั้น ใบประกอบคล้ายใบมะยม สีเขียวเข้มมัน ดอกเล็ก ๆ เป็นช่อออกดอกตามง่ามใบ สีม่วงขาวชมพู ผลเป็นกลีบ หน้าตัดรูปดาว 5 แฉก สีเขียวอ่อน สุกสีเหลือง มีหลายพันธุ์

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน ไบรสจิตมันเย็น ต้มดื่ม ดับพิษร้อน แก้ไข้ ถอนพิษไข้หวัด ขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะขัด บดทาหรือพอก แก้เม็ดผดผื่นคันบวม แผลมีหนอง ห้ามเลือด แก้ปวด ถอนพิษแมลงมุม แก้พิษงู ดอกรสจืดเย็น ต้มดื่ม แก้ไข้หนาว ๆ ร้อน ๆ ขับพยาธิ ผลมีรสเปรี้ยวหวานเย็น รับประทานแก้ไอ แก้ไข้ ระบายความร้อน ถอนพิษผิดสีแดง แก้คอแห้ง แก้กระหายน้ำ แก้อาเจียน แก้เลือดออกตามไรฟัน แก้บิด ขับน้ำลาย ลดการอักเสบบวม แก้เจ็บเป็นโลหิต รับประทานมากขับระดู ทำให้แห้ง ต้มดื่มขับเสมหะ ขับปัสสาวะ ขับนิ่ว คั้นเอาน้ำจากผลรับประทานแก้ไข้ แก้เมา แก้เมาเฒ่า เนื่องจากใช้ป่า ผสมสารส้มดื่มขับนิ่ว แก้หนองใน เมล็ดรสขมเย็น บดขงน้ำรับประทาน แก้ปวด ทำให้นอนหลับ ทำให้อาเจียน ขับระดู แก้ปวดท้อง แก้ดีซ่าน เปลือกต้น รสฝาดเมา แก้ไข้ท้องเสีย ดับพิษแผลปวดแสบปวดร้อน รากรสหวานเย็น ต้มดื่มแก้ปวดศีรษะ ปวดข้อ ปวดกล้ามเนื้อ ดับพิษร้อน แก้ไข้ แก้ปวดแสบกระเพาะอาหาร จุกแน่นอก

องค์ประกอบทางเคมี polyphenols (59)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ antihyperglycemia (59), antiinflammation (60), antihypertension (61), hepatoprotective (62), antioxidant (63)

13. สับปะรด (Sap-pa-rot pineapple) (6)

สับปะรด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* (L.) Merr. เป็นพืชในวงศ์ Bromeliaceae เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี สูง 90-100 เซนติเมตร มีลำต้นใต้ดินปล้องสั้น ไม่แตกกิ่งก้านมีแต่กาบใบห่อหุ้มลำต้นใต้ดิน ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงเวียนถี่ ไม่มีก้านใบ ใบเรียวยาว โคนใบเป็นกาบหุ้มลำต้น ปลายแหลม ขอบใบมีหนาม แผ่นใบสีเขียวเข้มและเป็นทางสีแดง ด้านล่างมีนวลแห้งสีขาว ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด ดอกเรียงอัดกันแน่นรอบแกนช่อดอก ก้านช่อใหญ่แข็งแรง กลีบดอก 3 กลีบ ด้านบนสีชมพูอมม่วงด้านล่างสีขาว เกสรเพศผู้ 6 อันเรียงกันเป็น 2 ชั้น ผล เป็นผลรวมรูปรี โคนกว้าง ปลายสอบ มีใบสั้นเป็นกระจุกที่ปลายผล เรียกว่าตะเกียง ผลสุกสีเหลืองสดและน้ำน้ำ

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน เหง้าและตะเกียง ประุงเป็นยาต้ม ขับปัสสาวะ แก้ไอ แก้มูกติดระดูขาว แก้หนองใน ใบมีรสฝื่อน น้ำจากใบ เป็นยาขับปัสสาวะ ผลมีรสเปรี้ยวหวาน รับประทานอีกเสบอาการบวม ช่วยซ่อมแซมเนื้อเยื่อทำให้แผลหายเร็ว กัดเสมหะในลำคอ ย่อยอาหารในกระเพาะลำไส้ เป็นยาระบายอ่อน ๆ แก้อาการปวดท้อง ขับปัสสาวะ ผลอ่อนขับปัสสาวะ แก้อาการท้องใน กามโรค ขับพยาธิในเด็ก ทำให้แห้ง เปลือกผลมีรสฝื่อนเปรี้ยว แก้กษัย บำรุงไต ขับปัสสาวะ

องค์ประกอบทางเคมี phenolics (64,65)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ anthelmintic (66), antitumor (67), antihyperlidemia (68), antihyperglycemia (69), antifungal (70), diuretic (71)

14. หนอนตายหยาก (Non-tai-yak หนอนตายหยากเล็ก กะเพียดหนู โป่งมดงาม สลอดเชียงคำ stemona)

หนอนตายหยาก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stemona tuberosa* Lour. เป็นพืชในวงศ์ Stemonaceae เป็นไม้เถาเถากลมเล็กเรียวสีเขียว พาดพันต้นไม้อื่น ใบรูปหัวใจ เส้นใบวิ่งตามยาวราว 10 เส้น ผิวและขอบเรียบสีเขียวเข้ม มีหัวเป็นแท่งกลมยาว ขนาดนิ้วมือ เป็นกระจุก ดอกตูมเป็นรูปเหมือนเงินรางสีเขียวมเหลืองบานออกเป็นสีแดงเข้ม หรือขาว ฝักเล็กปลายแหลมยาวราว 2 เซนติเมตร กว้างราว 1 เซนติเมตร ขึ้นตามป่าดงดิบเขาทั่วไป

สรรพคุณและการใช้ทางพื้นบ้าน ราก (หัว) รสเมาเบื่อ ประุงยารับประทาน แก้อาการวิหิงษ์ น้ำเหลืองเสีย ผื่นคันตามร่างกาย ฆ่าเชื้อโรคพยาธิภายใน มะเร็งตับ ต้มสมน้ำ เอาน้ำพอกทาฆ่าเหา เหา แมลง หนอน ศัตรูพืช ต้มกับยาฉุน รุมหัวริดสีดวงให้ฝ่อแห้งไป

องค์ประกอบทางเคมี alkaloids (72,73)

ฤทธิ์ทางชีวภาพ antitussive (72,73), anticancer (74), antibacterial (75), antioxidant (76)

ถึงแม้ว่าจะมีการใช้พืชสมุนไพรในตำรับยาเหล่านี้สำหรับการรักษามะเร็ง แต่หากอ้างอิงข้อเท็จจริงทางวิทยาศาสตร์แล้ว สรรพคุณดังกล่าวขึ้นกับคุณสมบัติของพฤกษชาติ หรือสารสำคัญ ที่มีในพืชสมุนไพรเหล่านั้น แต่อย่างไรก็ตาม พืชสมุนไพรที่ปรากฏในตำรับยาไม่ได้ระบุสารสำคัญและกลไกการออกฤทธิ์ ซึ่งการไม่มีข้อมูลสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ ทำให้พืชสมุนไพรไม่เป็นที่นิยมอย่างเป็นสากล และพืชสมุนไพรหลายชนิดยังคงเป็น “พืชที่เชื่อว่าเป็นยา” และในการศึกษาวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้เล็งเห็นผลความสำคัญดังกล่าวจึงต้องการศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็งของพืชสมุนไพรในตำรับยานี้ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพของผู้คนในสังคม และเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรให้มากยิ่งขึ้น นำไปสู่การแข่งขันทางการค้าในเชิงนวัตกรรมพาณิชย์ ซึ่งก่อให้เกิดรายได้ที่เพิ่มมากขึ้น ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาคูณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรที่อยู่ในตำรับยาถิ่นที่ใช้รักษามะเร็งของตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) โดยทำการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ด้วยวิธีทดสอบต่าง ๆ ด้วยวิธีทดสอบต่าง ๆ คือ 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) free radical decolorization assay, oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay, superoxide radical scavenging assay และ nitric oxide scavenging assay ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) และฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ฮีโมออกซีจีเนส-1 (heme oxygenase-1) จากนั้นจึงทำการประเมินฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็งของสมุนไพรเหล่านี้เพื่อคัดเลือกสมุนไพรเพียงชนิดเดียวที่ให้ฤทธิ์โดยรวมเหมาะสมที่สุดเพื่อทำการศึกษาแยกสกัดหาสารสำคัญในสมุนไพรนั้นโดยใช้เทคนิคทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคูณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรบางชนิดในตำรับยาไทยพื้นบ้าน
2. เพื่อหาสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรบางชนิดในตำรับยาไทยพื้นบ้าน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. รัฐบาล นักวิจัยและภาคอุตสาหกรรม ได้รับข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ของพืชสมุนไพรไทยที่ใช้รักษามะเร็งในตำรับยาไทยพื้นบ้าน เพื่อนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์
2. สังคมและประชาชน ได้ทราบถึงคุณประโยชน์ที่ได้รับการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ของพืชสมุนไพร ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในการตัดสินใจบริโภคเพื่อบำบัดและส่งเสริมสุขภาพ สามารถก่อให้เกิดรายได้ในท้องถิ่น จากการที่ภาครัฐและนักวิจัยเผยแพร่แนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรดังกล่าว

ผลงานที่คาดว่าจะตีพิมพ์

Antioxidative Activity Related to Chemopreventive Property of Some Medicinal Plants Used in Thai Traditional Medical Formulation ในวารสาร Medicine Principles and Practice

บทที่ 2

วิธีการดำเนินการวิจัย

สารเคมี

Arachidonic acid (Sigma, USA)
2,2'-azo-bis, 2-amidinopropane dihydrochloride (Sigma, USA)
ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (Sigma, USA)
Chloroform (Carlo Erba, Italy)
Curcumin (Sigma, USA)
Dubelcco's Modified Eagle Medium (Sigma, USA)
Ethylacetate (Carlo Erba, Italy)
Fluorescein (Sigma, USA)
Glucose-6-phosphate (Sigma, USA)
Glucose-6-phosphate dehydrogenase (Sigma, USA)
L-Glutamine (Sigma, USA)
Hemin (Sigma, USA)
Hexane (Carlo Erba, Italy)
Naphthylethylenediamine dihydrochloride (Sigma, USA)
Nicotinamide adenine dinucleotide (Sigma, USA)
Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (Sigma, USA)
Nitroblue tetrazolium (Sigma, USA)
Phenazine methosulfate (Sigma, USA)
Phosphoric acid (Sigma, USA)
Potassium chloride (Sigma, USA)
Potassium dihydrogen phosphate (Sigma, USA)
Potassium persulfate(Sigma, USA)
Rat liver cytosol (Sigma, USA)
Silica gel (Merck, Germany)
Sodium acetate trihydrate (Sigma, USA)
Sodium chloride (Sigma, USA)
Sodium nitroprusside (Sigma, USA)
Sulfanilamide (Sigma, USA)
Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (Sigma, USA)

เครื่องมือและอุปกรณ์

Brukner Avance 300 NMR spectrometer

Freeze-dryer

High Performance Liquid Chromatograph

Microtiter plate reader

Microplate reader

Rotary Evaporator

Spectrophotometer

Spectrofluorometer

วิธีการทำวิจัย

1.การคัดเลือกและเตรียมสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรในตำรายาไทยพื้นบ้าน

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารทางวิชาการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และทำคัดเลือกพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดที่อยู่ในตำรายากินที่ใช้รักษามะเร็งจำนวน 6 ตำรับของตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) วัดปากคลองมะขามเฒ่า อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท เพื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็ง คือ กลุ่มน้ำ กลุ่มบก ชันทองพยับบาท ข้าวเจ้า ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ เตยหอม ทั้งก่อนพริกขี้หนู พลุ มะเกลือ มะเฟือง สับปะรด และหนอนตากหยาก รายชื่อพืชสมุนไพรและส่วนของพืชสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัยนี้ แสดงในตารางที่ 1

วิธีการเตรียมสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรทั้งหมด 14 ชนิดทำโดยใช้วิธีเดียวกับที่ระบุไว้ในตำรายา โดยนำพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ผึ่งแดดแห้งแล้ว นำมาบดย่อยให้ละเอียด ซึ่งพืชสมุนไพรชนิดละ 10 กรัม นำมาต้มในน้ำเดือดด้วยไฟอ่อน ๆ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองแยกกากออก แล้วนำสารละลายที่กรองได้ ไประเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุนจนเกือบแห้ง แล้วนำไปทำให้แห้งแบบระเหิดในเครื่อง freeze-dryer ที่อุณหภูมิ -42°C เป็นเวลา 1-2 วัน จนได้สารสกัดหยาบที่แห้งสนิท บันทึกน้ำหนักของสารสกัดที่ได้ และเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

2.การศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็งของสารสกัดหยาบสมุนไพร

2.1. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

2.1.1.การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) Free Radical Decolorization Assay

วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถของสารที่ทดสอบในการยับยั้ง ABTS free radical cation ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) ที่เกิดจาก ABTS โดยใช้ oxidizing agent คือ potassium persulfate ซึ่ง ABTS free radical จะมีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm แต่เมื่อมีสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการกำจัดอนุมูลอิสระ

ABTS รวมด้วย จะทำให้ปริมาณ ABTS free radical ลดลง จึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ลดลงด้วย

วิธีการทดสอบฤทธิ์ของตัวอย่างทำโดยดัดแปลงวิธีของ Re และคณะ (77) โดยเตรียม ABTS^{•+} working solution โดยการผสมสารละลาย ABTS 2.45 mM และสารละลาย potassium persulfate 7 mM ในปริมาตรที่เท่ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ ที่อุณหภูมิห้อง นาน 12-16 ชั่วโมง จากนั้นจึงอาจให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ระหว่าง 0.7-0.9 ที่ 734 nm การทดสอบฤทธิ์ของตัวอย่างทำโดยเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL แล้วใช้สารละลายนี้ 20 μ L ผสมกับ ABTS^{•+} working solution 180 μ L แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm โดยใช้เครื่อง Microtiter plate reader ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) ความสามารถในการกำจัด ABTS free radical (% inhibition) นั้นคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A \text{ negative control} - A \text{ sample})}{A \text{ negative control}} \times 100$$

โดย A negative control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ของกลุ่มควบคุม

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ของตัวอย่างที่ทดสอบ

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบแสดงผลในรูปของ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ซึ่งเป็นความสามารถในการกำจัดอนุมูล ABTS ของสารสกัดหยาบ 1 กรัม ที่เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน trolox ในหน่วยมิลลิกรัม โดยถ้าค่า TEAC มีค่าสูง แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมาก

2.1.2. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

Assay

วิธีนี้เป็นการวัดความสามารถของสารที่ทดสอบในการยับยั้งอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxyl radical) ไม่ให้ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยน ฟลูออเรสซิน (fluorescein, FL) ที่ให้แสงฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนเป็นสารที่ไม่ให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นเมื่อเติมสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันลงโดยกำจัดอนุมูลเปอร์ออกซี จะทำให้มีแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามปริมาณและความแรงของสารทดสอบที่เติมลง

วิธีการทดสอบฤทธิ์ของตัวอย่างทำโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Huang และคณะ (78) ทำโดยเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบในน้ำให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นจึงอาจสารละลายตัวอย่างใน 75 mM phosphate buffer pH 7.2 ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ตามที่ต้องการ บีบสารละลายตัวอย่าง 25 μ L และเติมสารละลาย 14 μ M fluorescein 150 μ L ลงในแต่ละหลุม แล้วนำ plate ไปเข้าตู้อบ ที่ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที และเติมสารละลาย 153 mM 2,2'-azo-bis, 2-amidinopropane (AAPH)

dihydrochloride 25 μ L ทำการวัดค่าการเปล่งแสงที่ 520 nm โดยมีการกระตุ้นแสงที่ 485 nm โดยบันทึกค่าทุก ๆ 1 นาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้เครื่อง Microplate reader จากนั้นสร้างกราฟระหว่างค่าการเปล่งแสง (แกน x) และเวลา (แกน y) แล้วคำนวณหาความแตกต่างของพื้นที่ใต้กราฟของ fluorescein ที่มีสารที่ทดสอบกับกลุ่มควบคุม (net AUC) จากสูตรด้านล่าง ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง และการทดลองนี้ใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน

$$\text{net AUC} = \text{AUC sample} - \text{AUC control}$$

โดย AUC sample คือ พื้นที่ใต้กราฟของ fluorescein ที่มีสารที่ทดสอบ

AUC control คือ พื้นที่ใต้กราฟของ fluorescein กลุ่มควบคุม

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบแสดงผลในรูปของ Trolox Equivalent (TE) ซึ่งเป็นความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ 1 กรัม ที่เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox ในหน่วย μ mole โดยถ้าค่า TE มีค่าสูง แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมาก

2.1.3. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Nitric Oxide Scavenging Activity Assay

วิธีนี้เป็นการวัดความสามารถของสารที่ทดสอบในการยับยั้ง nitric oxide free radical ที่เกิดจาก sodium nitroprusside ในตัวทำละลายที่ pH 7.4 ซึ่ง nitric oxide free radical จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ได้เป็น nitrite ions ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ Griess reagent ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm แต่เมื่อมีสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการกำจัดอนุมูล nitric oxide ร่วมด้วย จะทำให้ปริมาณของ nitric oxide ลดลง จึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm ลดลงด้วย

วิธีการทดสอบฤทธิ์ทำโดยดัดแปลงวิธีของ Sreejayan N และ Rao, M.N. (79) ทำโดยเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมกับสารละลาย 5 mM sodium nitroprusside ใน phosphate buffer saline (PBS) และทำการบ่ม plate ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 150 นาที จากนั้นนำสารละลาย 150 μ L มาผสมกับ Griess reagent (1% sulfanilamide and 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride in 2% H_3PO_4) 100 μ L แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm โดยใช้เครื่อง Microtiter plate reader ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้งและใช้ L-ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานความสามารถในการกำจัด NO free radical (% inhibition) นั้นคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{A negative control} - \text{A sample})}{\text{A negative control}} \times 100$$

โดย A negative control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm ของกลุ่มควบคุม

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm ของตัวอย่างที่ทดสอบ

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบแสดงในรูปของ 50% Inhibition Concentration (IC₅₀) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในหน่วย µg/mL ที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ nitric oxide ได้ 50% ของปริมาณเริ่มต้น

2.1.4. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Superoxide Radicals Scavenging Activity Assay

วิธีเป็นการวัดความสามารถของสารที่ทดสอบในการยับยั้ง superoxide radicals ซึ่ง superoxide radicals เกิดจาก nonenzymatic phenazine methosulfate-nicotinamide adenosine dinucleotide (PMS/NADH) system ซึ่ง superoxide radicals ที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยน nitroblue tetrazolium (NBT) ที่มีสีเหลือง ไปเป็น NBT-diformazan ที่มีสีน้ำเงินและสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 560 nm แต่เมื่อมีสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการกำจัด superoxide radicals ร่วมด้วย จะทำให้ปริมาณของ superoxide radicals ลดลง ซึ่งทำให้ปริมาณของ NBT-diformazan ลดลงด้วย จึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm ลดลง

วิธีการทดสอบฤทธิ์ทำโดยดัดแปลงวิธีของ Ewing, J.F., Janero, D.R. (80) ทำโดยเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และปิเปตสารละลายตัวอย่างจำนวน 25 µL นำมาผสมกับสารละลาย 33 µM phenazine methosulfate 200 µL, สารละลาย 98 µM nicotinamide adenine dinucleotide 200 µL และ สารละลาย 62 µM nitroblue tetrazolium 200 µL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 nm โดยใช้เครื่อง Microtiter plate reader ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้งและใช้ curcumin เป็นสารมาตรฐาน ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันวัดจากความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ superoxide anions (% inhibition) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A \text{ negative control} - A \text{ sample})}{A \text{ negative control}} \times 100$$

โดย A negative control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 nm ของกลุ่มควบคุม

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 nm ของตัวอย่างที่ทดสอบ

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบแสดงผลในรูปของ 50% Inhibition Concentration (IC₅₀) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในหน่วย µg/mL ที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ superoxide anions ได้ 50% ของปริมาณเริ่มต้น

2.2. ฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)

วิธีการทดสอบฤทธิ์ทำโดยวิธี Enzyme immunoassay (EIA) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Kirtikara และคณะ (81) โดยเพาะเลี้ยง mouse prostaglandin H synthase (PGHS-1 and PGHS-2) null cell ในอาหาร glucose-Dubelcco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่มี 200 µg/mL hygromycin B, 0.1 mM non essential amino acid, 2 mM L-glutamine, 0.05 mg/mL ascorbic acid และ 10% fetal calf serum (FCS) ให้มีจำนวน 4×10^3 cells ต่อ 100 µL ต่อหลุมของ plate จากนั้นนำ plate บ่มในตู้เพาะเลี้ยงที่ควบคุมความชื้น ณ อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้ สภาวะ 5% CO₂ เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ก่อนจะล้างเซลล์และเติม serum-free DMEM ที่มีตัวทำละลายหรือสารที่ทดสอบและ 5 µM arachidonic acid บ่มในตู้เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณ prostaglandin E₂ (PGE₂) โดยใช้ EIA kit โดยเจือจางส่วนใสของแต่ละหลุมด้วย DMEM จำนวน 20-80 เท่า แล้วเปิดส่วนใส (supernatant) จำนวน 50 µL เติมนลงในหลุมที่เคลือบด้วย goat polyclonal anti-mouse IgG เติมน PGE₂ AChE tracer 50 µL และ PGE₂ monoclonal antibody 50 µL ลงในแต่ละหลุม นำ plate บ่มในตู้เพาะเลี้ยงที่ควบคุมความชื้น ณ อุณหภูมิ 4 °C ภายใต้ สภาวะ 5% CO₂ เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นล้างเซลล์ด้วย buffer และเติม Ellman's reagent 200 µL แล้วนำ plate ไปไว้ในที่มีดและเขย่าเป็นเวลา 60-90 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm โดยใช้เครื่อง Spectra Max M5 microplate reader โดยค่าการดูดกลืนแสงสามารถนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของ PGE₂ ได้โดยใช้ standard curve ของ aspirin/ibuprofen ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน ฤทธิ์ด้านการอักเสบวัดจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = [1 - (P_T / P_C)] \times 100$$

โดย P_T เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm ของตัวอย่างที่ทดสอบ

P_C เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm ของกลุ่มควบคุม

โดยถ้าสารตัวอย่างที่ทดสอบมีฤทธิ์ยับยั้งมากกว่า 50% จะถือว่าสารทดสอบนั้นมีฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2

2.3 ฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ฮีโมออกซีจีเนส-1 (induction the activity of heme oxygenase-1 enzyme)

วิธีนี้เป็นการวัดความสามารถของสารที่ทดสอบในการเหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 โดยเอนไซม์นี้เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของฮีโม (heme) ทำให้ได้ เหล็ก คาร์บอนมอนอกไซด์ และ บิลิเวอร์ดิน (biliverdin) หรือ บิลิรูบิน (bilirubin) ที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 nm

วิธีการทดสอบฤทธิ์ทำโดยดัดแปลงจากวิธีของ Foresti และคณะ (82) โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์ Hep G2 ในอาหาร Dubelcco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่มี 2 mM L-glutamine และ 10% fetal calf serum (FCS) ให้มีจำนวน 1×10^6 cells/mL ต่อหลุมของ plate จากนั้นนำ plate บ่มในตู้เพาะเลี้ยงที่ควบคุมความชื้น ณ อุณหภูมิ 37°C ภายใต้ สภาวะ 5% CO₂ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ล้างเซลล์และเติม serum-free DMEM ที่มีตัวทำละลายหรือสารที่ทดสอบที่ความเข้มข้น 10 µg/mL, 50 µg/mL และ 100 µg/mL บ่มในตู้เพาะเลี้ยงที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วล้างเซลล์ด้วย phosphate buffer saline (PBS) จำนวน 3 ครั้ง แล้วเติม lysis solution บั่นแยกเศษเซลล์ออก เก็บส่วนใส (supernatant) มาทดสอบหา activity heme oxygenase-1 โดยเติมส่วนใสลงในสารละลายที่ประกอบด้วย NADPH system (NADPH, NADP, glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase), 1 mM hemin, rat liver cytosol นำ plate บ่มในตู้เพาะเลี้ยงที่ควบคุมความชื้น ณ อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้ สภาวะ 5% CO₂ เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง บั่นแยกตะกอนโปรตีนแล้วนำชั้นใสมาคำนวณการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 และ 520 nm โดยใช้เครื่อง spectrophotometry ฤทธิ์เหี่ยวนำแอกติวิตี heme oxygenase-1 คำนวณจากสูตร

$$\text{Activity} = (A_{430} - A_{520}) \times 40$$

โดย A_{430} เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 430 nm ของตัวอย่างที่ทดสอบ

A_{520} เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm ของตัวอย่างที่ทดสอบ

ฤทธิ์เหี่ยวนำแอกติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase -1 ของสารสกัดหยาบแสดงผลเป็นจำนวนเท่าที่เหี่ยวนำแอกติวิตีของเอนไซม์นี้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

3.การเตรียมสารสกัดหยาบสำหรับการแยกหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์

3.1.การเตรียมสารสกัดหยาบพลู

นำใบพลูที่ผึ่งแห้งและย่อยให้ละเอียดจำนวน 110 กรัม เติมน้ำจำนวน 1 ลิตร และต้มน้ำให้เดือด ด้วยไฟอ่อน ๆ หลังจากนั้นต้มต่อเป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองแยกกากออก และ นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุนจนเกือบแห้ง ให้เหลือสารละลายประมาณ 200 mL จากนั้นนำส่วนสารละลายใส่ไปสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์สามชนิด คือ เฮกเซน (hexane) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และเอทิลอะซิเตต (ethylacetate) ตามลำดับ โดยสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดจำนวน 2 ครั้ง ๆ ละ 200 mL นำสารสกัดที่ได้จำนวน 4 ชนิด คือ สารสกัดเฮกเซน สารสกัดคลอโรฟอร์ม สารสกัดเอทิลอะซิเตต และสารสกัดน้ำ ไปไประเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุนจนเกือบแห้ง แล้วนำไปทำให้แห้งแบบระเหิดในเครื่อง freeze-dryer ที่อุณหภูมิ -42 °C เป็นเวลา 1-2 วัน จนได้สารสกัดหยาบที่แห้งสนิท บันทึกน้ำหนักของสารสกัดที่ได้ บันทึกน้ำหนักของแต่ละส่วน แผนภาพแสดงการเตรียมสารสกัดหยาบพลูแสดงในรูปที่ 1

3.2. การตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบพลูโดยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟี

ประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

นำชิ้นสารสกัดหยาบที่ได้จากขั้น 3.1 ไปตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นโดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด Eclipse XDB-C18 (5 μ m, 4.6 x 25 mm) โดยมีอัตราการไหล 1.1 mL/min และวัฏภาคเคลื่อนที่เป็น MeOH : 3% acetic acid ในน้ำ ในอัตราส่วน 34 : 66 เป็นเวลา 30 นาที และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254, 280, 320 nm บันทึกกราฟ HPLC chromatograms ที่ได้

3.3. การแยกสารสำคัญจากสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มจากใบพลู

นำสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์ม 4.20 gm มาแยกหาสารสำคัญโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ silica gel (100-200 mesh) 200 gm บรรจุในคอลัมน์แก้วที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 cm โดยใช้ตัวทำละลายสำหรับการชะ (fraction eluting) เป็นเฮกเซน และเพิ่มปริมาณของเอทิลอะซิเตตครั้งละ 10 % จนถึง 100 % เก็บรวบรวมส่วนปลีกย่อยสาร (fraction) ตัวอย่างละ 100 mL นำแต่ละ fraction มาตรวจสอบด้วย TLC (thin layer chromatography) ชนิด silica โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น Hexane : Ethylacetate (3:2) รวบรวม fraction ที่มีรูปแบบ TLC เหมือนกันเข้าได้ทั้งหมดแล้วระเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุนและทำให้แห้งแบบระเหิดด้วยเครื่อง freeze-dryer บันทึกน้ำหนักที่ได้ในแต่ละ fraction จำนวน 10 fractions (fractions PB1-PB10)

นำ fraction PB6 ของสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์ม 3.32 gm มาแยกหาสารสำคัญโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ silica gel (100-200 mesh) 150 gm บรรจุในคอลัมน์แก้วที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm โดยใช้ fraction eluting เป็นเฮกเซน และเพิ่มปริมาณของเอทิลอะซิเตตครั้งละ 1 % จนถึง 100 % เก็บรวบรวม fraction ตัวอย่างละ 25 mL นำแต่ละ fraction มาตรวจสอบด้วย TLC ชนิด silica โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น Hexane : Ethylacetate (3:2) รวบรวม fraction ที่มีรูปแบบ TLC เหมือนกันเข้าได้ทั้งหมด แล้วระเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุนและทำให้แห้งแบบระเหิดด้วยเครื่อง freeze-dryer บันทึกน้ำหนักที่ได้ในแต่ละ fraction จำนวน 11 fractions (fractions PB61-PB611)

3.4. การพิสูจน์เอกลักษณ์สารโดยใช้วิธีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)

นำตัวอย่างละลายในตัวทำละลาย deuterated chloroform และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Bruker Avance 300 ค่าเคมีคัลชิฟต์ (chemical shift, δ) แสดงผลในรูปแบบ part per million (ppm) โดยใช้ tetramethylsilane เป็นสารอ้างอิงภายใน (internal reference) ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ แสดงผลในรูปแบบของค่าเคมีคัลชิฟต์ [มัลติพลิตี (multiplicity), ค่าคงที่ของการคู่ควบในหน่วยเฮิรตซ์ (coupling constant in hertz), จำนวนโปรตอน] และ $^{13}\text{C-NMR}$ แสดงผลในรูปแบบของค่าเคมีคัลชิฟต์ (chemical shift)

บทที่ 3

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การคัดเลือกและเตรียมสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรในตำรับยาไทยพื้นบ้าน

ผู้วิจัยได้คัดเลือกพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดที่อยู่ในตำรับยาที่ใช้รักษามะเร็งจำนวน 6 ตำรับของตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) วัดปากคลองมะขามเฒ่า อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท เพื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งทั้งหมด โดยมีรายชื่อพืชสมุนไพรและส่วนของพืชสมุนไพรที่ใช้ในศึกษาแสดงในตารางที่ 1 จากการทบทวนเอกสารวิชาการพบว่าพืชสมุนไพรที่มีรายงานวิจัยเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านมะเร็งของพืชสมุนไพรเหล่านี้ด้วย คือ ขันทองพยาบาท (12) ข้าวเจ้า (15,16) ข้าวเย็นใต้ (24) เตยหอม (33) ทังถ่อน (36,37) พลู (47) สับปะรด (67) และหนอนตายหยาก (74)

ตารางที่ 1 รายชื่อพืชสมุนไพรและส่วนของพืชสมุนไพรที่ใช้ในศึกษา

พืชสมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนของพืชที่ใช้
กุ่มน้ำ	<i>Crataeva magna</i> (Lour.) DC.	เปลือกต้น
กุ่มบก	<i>Crataeva adansonii</i> DC. ssp. <i>trifoliata</i> (Roxb.) Jacobs.	เปลือกต้น
ขันทองพยาบาท	<i>Suregada multiflora</i>	แก่นต้น
ข้าวเจ้า	<i>Oryza sativa</i> Lin.	เมล็ด
ข้าวเย็นเหนือ	<i>Smilax corbularia</i> Kunth	เหง้า
ข้าวเย็นใต้	<i>Smilax glabra</i> Roxb.	เหง้า
เตยหอม	<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.	ราก
ทังถ่อน	<i>Albizia procera</i> (Roxb.) Benth.	แก่นต้น
พริกขี้หนู	<i>Capsicum frutescens</i> L. var. <i>frutescens</i> .	แก่นต้น
พลู	<i>Piper betle</i> L.	ใบ
มะเกลือ	<i>Diospyros mollis</i> Griff.	แก่นต้น
มะเฟือง	<i>Averrhoa carambola</i> Linn.	แก่นต้น
สับปะรด	<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.	เหง้า
หนอนตายหยาก	<i>Stemona tuberosa</i> Lour.	ใบ

ในการเตรียมสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดได้ใช้วิธีการต้มพืชสมุนไพรในน้ำ ซึ่งเป็นวิธีเดียวกับที่ระบุไว้ในตำรายา คือ “นำมาใส่หม้อดินต้มกับน้ำพอสมควร” โดยในการทดลองได้นำพืชสมุนไพรมาต้มในน้ำเดือดด้วยไฟอ่อน ๆ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองแยกกากออก แล้วนำสารละลายที่

กรองได้ไประเหยแห้งและทำให้แห้งแบบระเหิด จนได้สารสกัดหยาบของสมุนไพรที่แห้งสนิทและเก็บไว้ในตู้เย็นสำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็งต่อไป

น้ำหนักของสารสกัดหยาบในรูปแห้งของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดในตารางที่ 2 พบว่าร้อยละของปริมาณสาร (% yield) ของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิด จะมีค่าแตกต่างกัน (0.43-15.42 %) โดยสารสกัดหยาบจากเหง้าของข่าเย็นเนื้อนี้มีปริมาณมากที่สุด (15.42 %) ส่วนสารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายอยากมีปริมาณสารน้อยที่สุด (0.43 %)

ตารางที่ 2 น้ำหนักสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพร 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละของปริมาณสาร
กุ่มน้ำ	0.2675	2.68
กุ่มบก	0.7477	7.48
ชันทองพญาบาท	0.1198	1.20
ข้าวเปลือกเจ้า	0.094	0.94
ข้าวเย็นเนื้อ	1.5419	15.42
ข้าวเย็นใต้	0.7179	7.18
เตยหอม	0.6711	6.71
ทึงถ่อน	0.843	8.43
พริกขี้หนู	0.5098	5.10
พลู	0.1696	1.70
มะเกลือ	0.3474	3.47
มะเฟือง	0.1357	1.36
สับปะรด	0.9834	9.83
หนอนตายอยาก	0.0425	0.43

2.การศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็งของสารสกัดหยาบสมุนไพร

2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

2.1.1.การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ABTS Free Radical Decolorization Assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบสารสกัดหยาบสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดโดย ABTS free radical decolorization assay แสดงผลในรูปของ TEAC ในตารางที่ 3 ผลการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธีนี้พบว่า ค่าของ TEAC ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันมาก โดยค่า TEAC มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0513-3.5381 (mg trolox / gm extract) โดยสารสกัดหยาบจากใบของพลู

มีค่า TEAC มากที่สุด (3.5381) และ สารสกัดหยาบจากเมล็ดของข้าวเปลือกเจ้ามีค่า TEAC น้อยที่สุด (0.0513)

จากการพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ABTS free radical decolorization assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด อาจแบ่งสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ ได้เป็นสามกลุ่ม คือ กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีมาก โดยมีค่า TEAC มากกว่า 1 mg trolox / gm extract จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากใบของพลู สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของทิงถ่อน สารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหยาก สารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นใต้ กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีปานกลาง โดยมีค่า TEAC อยู่ระหว่าง 0.1-1 mg trolox / gm extract จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเกลือ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของชันทองพญาบาท สารสกัดหยาบจากรากของเตยหอม สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มน้ำ สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรด สารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นเหนือ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มบก และสารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเฟือง และกลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อย โดยมีค่า TEAC น้อยกว่า 0.1 mg trolox / gm extract จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของพริกขี้หนู และสารสกัดหยาบจากเมล็ดของข้าวเปลือกเจ้า

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ABTS free radical decolorization assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	TEAC (mg trolox / gm extract)
กุ่มน้ำ	0.2870 ± 0.0044
กุ่มบก	0.2087 ± 0.0056
ชันทองพญาบาท	0.5790 ± 0.0038
ข้าวเปลือกเจ้า	0.0513 ± 0.0024
ข้าวเย็นเหนือ	0.2150 ± 0.0022
ข้าวเย็นใต้	1.4937 ± 0.0057
เตยหอม	0.3765 ± 0.0042
ทิงถ่อน	2.3562 ± 0.0043
พริกขี้หนู	0.0743 ± 0.0035
พลู	3.5381 ± 0.0237
มะเกลือ	0.8674 ± 0.0056
มะเฟือง	0.1802 ± 0.0046
สับปะรด	0.2374 ± 0.0021
หนอนตายหยาก	1.6838 ± 0.0056

Mean ± S.D., n=3, TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

2.1.2.การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ORAC Assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบสารสกัดหยาบสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดโดย ORAC assay แสดงผลในรูปของ TE ในตารางที่ 4 ผลการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธีนี้พบว่า ค่าของ TE ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันมาก โดยค่า TE มีค่าอยู่ระหว่าง 215.98-5,515.98 ($\mu\text{mole trolox / gm extract}$) โดยสารสกัดหยาบจากใบของพลูมีค่า TE มากที่สุด (5,515.98) และ สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรดมีค่า TE น้อยที่สุด (215.98)

จากการพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย ORAC assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด อาจแบ่งสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ ได้เป็นสามกลุ่ม คือ 1) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีมาก โดยมีค่า TE มากกว่า 2,000 $\mu\text{mole trolox / gm extract}$ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากใบของพลู สารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหายาก สารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นใต้ และสารสกัดหยาบจากแก่นต้นของทิงถ่อน 2) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีปานกลาง โดยมีค่า TEAC อยู่ระหว่าง 1,000-2,000 $\mu\text{mole trolox / gm extract}$ จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเกลือ และสารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเฟือง และ 3) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อยโดยมีค่า TEAC น้อยกว่า 1,000 $\mu\text{mole trolox / gm extract}$ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากรากของเตยหอม สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของชันทองพญาบาท สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของพริกขี้หนู สกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มน้ำ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มบก สารสกัดหยาบจากเมล็ดของข้าวเปลือกเจ้า สารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นเหนือ และสารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรด

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Oxygen radical absorbance capacity assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	TE (μ mole trolox / gm extract)
กุ่มน้ำ	383.13 $\pm$ 7.11
กุ่มบก	319.63 $\pm$ 1.45
ชันทองพญาบาท	801.96 $\pm$ 25.49
ข้าวเปลือกเจ้า	290.74 $\pm$ 12.69
ข้าวเย็นเหนือ	216.39 $\pm$ 5.60
ข้าวเย็นใต้	2,537.68 $\pm$ 4.07
เตยหอม	859.57 $\pm$ 15.21
ทิงถ่อน	2,366.21 $\pm$ 20.51
พริกขี้หนู	746.98 $\pm$ 4.32
พลู	5,515.89 $\pm$ 151.48
มะเกลือ	1769.08 $\pm$ 74.36
มะเฟือง	1,721.74 $\pm$ 69.57
สับปะรด	215.98 $\pm$ 9.86
หนอนตายหยาก	2,810.99 $\pm$ 116.48

Mean $\pm$ S.D., n=3, TE = Trolox Equivalent

2.1.3.การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Nitric Oxide Scavenging Activity Assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบสารสกัดหยาบสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดโดย nitric oxide scavenging activity assay แสดงผลในรูปของ IC₅₀ (μ g/mL) ในตารางที่ 5 ผลการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธีนี้ พบว่ามีสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์จำนวน 12 ชนิด โดยค่า IC₅₀ ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน โดยค่า IC₅₀ มีค่าอยู่ระหว่าง 9.23-49.08 μ g/mL โดยสารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหยาก มีฤทธิ์ดีที่สุด มีค่า IC₅₀ น้อยที่สุด (9.23 μ g/mL) และ สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรดมีฤทธิ์ต่ำที่สุด มีค่า IC₅₀ มากที่สุด (49.08 μ g/mL) แต่สารสกัดหยาบทั้งหมดที่มีฤทธิ์ยังมีฤทธิ์น้อยกว่า L-ascorbic acid ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่มี IC₅₀ = 8.24 μ g/mL และมีสารสกัดหยาบที่ไม่มีฤทธิ์จำนวน 2 ชนิด คือ สารสกัดหยาบจากเมล็ดของข้าวเปลือกเจ้า และสารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นเหนือ

จากการพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Nitric oxide scavenging activity assay ของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์จำนวน 12 ชนิด อาจแบ่งสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ ได้เป็นสามกลุ่ม คือ 1) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีมาก โดยมีค่า IC₅₀ น้อยกว่า 10 μ g/mL จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ สาร

สกัดหยาบจากใบของหนอนตายหายาก 2) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีปานกลาง โดยมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 10-25 $\mu\text{g/mL}$ จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของทึงถ่อน สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มบก สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเกลือ สกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มน้ำ สารสกัดหยาบจากใบของพลู และสารสกัดหยาบจากรากของเตยหอม และ 3) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อยโดยมีค่า IC_{50} มากกว่า 25 $\mu\text{g/mL}$ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเฟือง สารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นใต้ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของชันทองพญาบาท สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของพริกขี้หนู และสารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรด

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Nitric oxide scavenging activity assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	NO scavenging activity (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)
กุ่มน้ำ	22.61 $\pm$ 0.58
กุ่มบก	12.32 $\pm$ 0.92
ชันทองพญาบาท	32.98 $\pm$ 2.75
ข้าวเจ้า	NA
ข้าวเย็นเหนือ	NA
ข้าวเย็นใต้	30.93 $\pm$ 3.28
เตยหอม	24.55 $\pm$ 0.26
ทึงถ่อน	11.32 $\pm$ 1.04
พริกขี้หนู	46.73 $\pm$ 1.06
พลู	24.10 $\pm$ 0.85
มะเกลือ	22.57 $\pm$ 0.73
มะเฟือง	26.54 $\pm$ 0.84
สับปะรด	49.08 $\pm$ 1.27
หนอนตายหายาก	9.23 $\pm$ 1.54
L-ascorbic acid*	8.24 $\pm$ 0.63

Mean $\pm$ S.D., n=3, NA = not active , * = standard

2.1.4.การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Superoxide Radicals Scavenging Activity Assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบสารสกัดหยาบสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดโดย Superoxide radicals scavenging activity assay แสดงผลในรูปของ IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ในตารางที่ 6 ผลการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธีนี้ พบว่ามีสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์จำนวน 8 ชนิด โดยค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดจะมีความแตกต่าง โดยค่า IC_{50} มีค่าอยู่ระหว่าง 27.96 -106.73 $\mu\text{g/mL}$ โดยสารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหายาก มีฤทธิ์ดีที่สุด มีค่า IC_{50} น้อยที่สุด (27.96 $\mu\text{g/mL}$) และ

สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรดมีฤทธิ์ต่ำที่สุด มีค่า IC_{50} มากที่สุด (106.73 $\mu\text{g/mL}$) และมีสารสกัดหยาบที่ไม่มีฤทธิ์นี้จำนวน 6 ชนิด คือ สกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มน้ำ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของกุ่มบก สารสกัดหยาบจากเมล็ดของข้าวเปลือกเจ้า สารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นเหนือ สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของชันทองพญาบาท และสารสกัดหยาบจากแก่นต้นของพริกขี้หนู

จากการพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Superoxide radicals scavenging activity assay ของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์นี้จำนวน 8 ชนิด อาจแบ่งสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ ได้เป็นสามกลุ่ม คือ 1) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีมาก โดยมีค่า IC_{50} น้อยกว่า 50 $\mu\text{g/mL}$ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหยาก สารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นใต้ และสารสกัดหยาบจากใบของพลู 2) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีปานกลาง โดยมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 50-100 $\mu\text{g/mL}$ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากรากของเตยหอม สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของทึงถ่อน สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเกลือ และสารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเฟือง และ 3) กลุ่มของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อย โดยมีค่า IC_{50} มากกว่า 100 $\mu\text{g/mL}$ จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรด

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Superoxide radicals scavenging activity assay ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	$O_2^{\cdot -}$ scavenging activity (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)
กุ่มน้ำ	NA
กุ่มบก	NA
ชันทองพญาบาท	NA
ข้าวเจ้า	NA
ข้าวเย็นเหนือ	NA
ข้าวเย็นใต้	41.53 $\pm$ 0.87
เตยหอม	65.28 $\pm$ 3.81
ทึงถ่อน	71.07 $\pm$ 2.20
พริกขี้หนู	NA
พลู	42.64 $\pm$ 1.66
มะเกลือ	74.62 $\pm$ 1.14
มะเฟือง	85.71 $\pm$ 2.93
สับปะรด	106.73 $\pm$ 4.72
หนอนตายหยาก	27.96 $\pm$ 0.36
Curcumin*	64.17 $\pm$ 0.43

Mean $\pm$ S.D., n=3, NA = not active, * = standard

2.2.การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 (cyclooxygenase-2)

การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดหยาบสารสกัดหยาบสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 แสดงผลในรูปของเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) ในตารางที่ 7 ผลการประเมินฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยวิธีนี้ พบว่าสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีค่า % inhibition ตั้งแต่ 0 – 81.12 แต่การพิจารณาว่าสารสกัดหยาบใดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ด้วยวิธีนั้นต้องมี % inhibition มากกว่า 50 ซึ่งจากผลการทดลองในตารางที่ 7 มีเพียงสารสกัดหยาบจากใบของพลูเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มี % inhibition มากกว่า 50 (% inhibition = 81.12) ดังนั้นจึงสรุปว่ามีเพียงสารสกัดหยาบจากใบของพลูเพียงชนิดเดียวที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2

ตารางที่ 7 ฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	% Inhibition
กุ่มน้ำ	0
กุ่มบก	47.62
ชันทองพญาบาท	10.48
ข้าวเจ้า	29.27
ข้าวเย็นเหนือ	0
ข้าวเย็นใต้	16.76
เตยหอม	27.99
ทังถ่อน	45.9
พริกขี้หนู	13.45
พลู	81.12
มะเกลือ	34.35
มะเฟือง	32.3
สับปะรด	28.86
หนอนตายหยาก	38.37

n=2

2.3. ฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ออกซีจีเนส-1 (heme oxygenase-1, HO-1)

การทดสอบฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 ในเซลล์มะเร็งตับชนิด Hep G2 ของสารสกัดหยาบสมุนไพรจำนวน 14 ชนิด แสดงผลในรูปของจำนวนเท่าของปริมาณ bilirubin ที่สร้างขึ้นในหน่วย nM ในตารางที่ 8 ผลการประเมินฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 โดยทดสอบสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 3 ระดับ (10, 50, 100 µg/mL) พบว่าสารสกัดหยาบมีค่าเหนี่ยวนำเอนไซม์นี้ที่แตกต่าง โดยที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/mL สารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจะมีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตี heme oxygenase-1 ระหว่าง 3.10 – 3.64 เท่าเมื่อเทียบ

กับกลุ่มควบคุม (0.74 เท่า) โดยสารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหยากมีฤทธิ์เหนี่ยวนำเอนไซม์มากที่สุด (3.64 เท่า) ที่ระดับความเข้มข้น 50 µg/mL สารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจะมีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตี heme oxygenase-1 ระหว่าง 2.84 – 3.66 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (0.74 เท่า) โดยสารสกัดหยาบจากเหง้าของสับปะรดมีฤทธิ์เหนี่ยวนำเอนไซม์มากที่สุด (3.66 เท่า) และที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/mL สารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรจะมีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตี heme oxygenase-1 ระหว่าง 3.10–4.19 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยสารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นเหนือมีฤทธิ์เหนี่ยวนำเอนไซม์มากที่สุด (4.19 เท่า) และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์เหนี่ยวนำเอนไซม์นี้กับ curcumin ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานในการทดลองนี้ พบว่า สารสกัดหยาบพืชสมุนไพรทุกชนิดจะมีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตี heme oxygenase-1 ที่ดีกว่า curcumin ทั้งที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 µg/mL แต่ที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/mL จะมีเพียงสารสกัดหยาบจากเหง้าของข้าวเย็นเหนือที่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตี heme oxygenase-1 (4.19 เท่า) ดีกว่า curcumin (3.58 เท่า) ดังนั้นสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรทุกชนิดมีการเหนี่ยวนำเอนไซม์ heme oxygenase-1 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (0.74 เท่า)

ตารางที่ 8 ฤทธิ์เหนี่ยวนำแอกติวิตีเอนไซม์ heme oxygenase-1 ของพืชสมุนไพร 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	ปริมาณ Bilirubin (nM) (จำนวนเท่า, fold increase)		
	ความเข้มข้น 10 µg/mL	ความเข้มข้น 50 µg/mL	ความเข้มข้น 100 µg/mL
กลุ่มน้ำ	3.64 ± 0.07	3.33 ± 0.12	3.38 ± 0.09
กลุ่มบก	3.35 ± 0.10	3.40 ± 0.10	3.46 ± 0.10
ชันทองพญาบาท	3.10 ± 0.07	3.24 ± 0.07	3.29 ± 0.04
ข้าวเจ้า	3.28 ± 0.15	3.36 ± 0.13	3.25 ± 0.30
ข้าวเย็นเหนือ	3.20 ± 0.03	2.84 ± 0.01	4.19 ± 0.02
ข้าวเย็นใต้	3.27 ± 0.80	3.57 ± 0.14	3.64 ± 0.04
เตยหอม	3.12 ± 0.08	3.07 ± 0.01	3.12 ± 0.05
ทิงถ่อน	3.26 ± 0.09	3.26 ± 0.05	3.37 ± 0.08
พริกขี้หนู	3.32 ± 0.07	3.43 ± 0.13	3.45 ± 0.05
พลู	3.42 ± 0.04	3.59 ± 0.19	3.10 ± 0.05
มะเกลือ	3.41 ± 0.02	3.47 ± 0.06	3.31 ± 0.21
มะเฟือง	3.17 ± 0.04	3.30 ± 0.13	3.24 ± 0.08
สับปะรด	3.55 ± 0.14	3.66 ± 0.09	3.48 ± 0.07
หนอนตายหยาก	3.64 ± 0.07	3.31 ± 0.12	3.18 ± 0.02
Curcumin*	1.18 ± 0.07	1.90 ± 0.08	3.58 ± 0.11
Control	0.74 ± 0.05	-	-

Mean ± S.D., n=3, * = standard

การคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งที่เหมาะสมเพียงชนิดเดียวสำหรับการแยกหาสารสำคัญ

ผลการทดสอบฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งโดยศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจำนวน 4 วิธีด้วย ABTS free radical decolorization assay, ORAC assay, nitric oxide scavenging activity assay และ superoxide radicals scavenging activity assay, ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 และฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 แสดงในตารางที่ 3-8 ตามลำดับ และผลสรุปการเปรียบเทียบฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดในตารางที่ 9 พบว่า สารสกัดหยาบที่ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีปานกลางถึงดีมากทั้ง 4 วิธี คือ หนอนตายหยาก พลู ทังถ้อง และมะเกลือ โดยสารสกัดหยาบจากใบของหนอนตายหยากมีฤทธิ์ดีที่สุดในทุกการทดสอบ และสารสกัดหยาบจากใบของพลู สารสกัดหยาบจากแก่นต้นของทังถ้อง และสารสกัดหยาบจากแก่นต้นของมะเกลือ มีฤทธิ์ที่ตรงลงมาตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาผลของฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 และฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 ร่วมด้วยสำหรับสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด คือ หนอนตายหยาก พลู ทังถ้อง และมะเกลือ พบว่าสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดมีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 ทั้งหมด แต่มีเฉพาะสารสกัดหยาบจากใบของพลูเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ร่วมด้วย ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไปสำหรับการแยกหาสารสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งดีที่สุดเพียงชนิดเดียว ทางผู้วิจัยได้เลือกพลูสำหรับการศึกษาขั้นต่อไป

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งด้วยวิธีต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิด

พืชสมุนไพร	Assay					
	ABTS	ORAC	NO scavenging	O ₂ ⁻ scavenging	Anti-COX2	HO-1
กุ่มน้ำ	++	+	++	-	-	+++
กุ่มบก	++	+	++	-	-	+++
ขันทองพยาบาท	++	+	+	-	-	+++
ข้าวเปลือกเจ้า	+	+	-	-	-	+++
ข้าวเย็นเหนือ	++	+	-	-	-	+++
ข้าวเย็นใต้	+++	+++	+	+++	-	+++
เตยหอม	++	+	++	++	-	+++
ทิงถ่อน	+++	+++	++	++	-	+++
พริกขี้หนู	+	+	+	-	-	+++
พลู	+++	+++	++	+++	+	+++
มะเกลือ	++	++	++	++	-	+++
มะเฟือง	++	++	+	++	-	+++
สับปะรด	++	+	+	+	-	+++
หนอนตายหยาก	+++	+++	+++	+++	-	+++

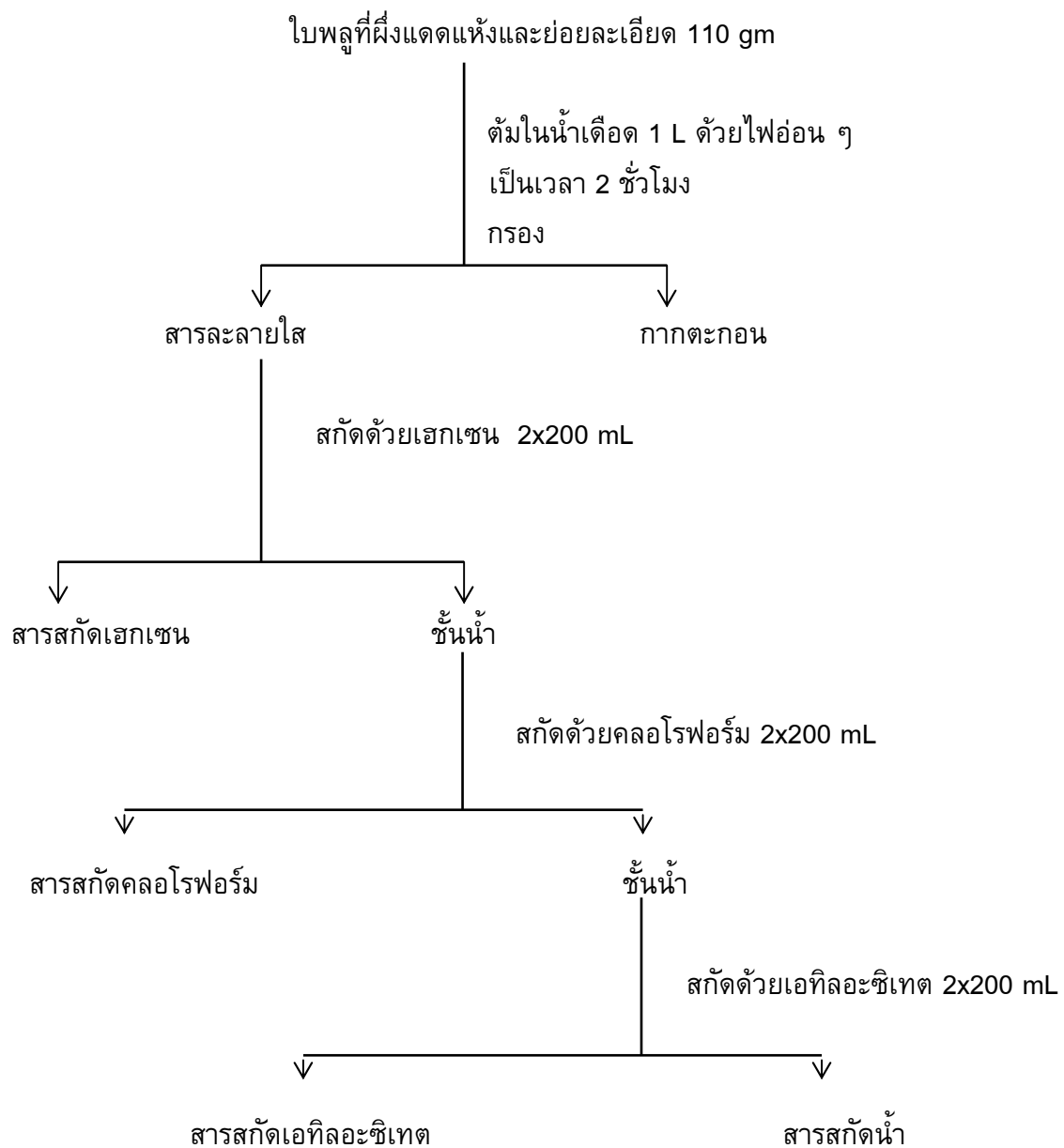
+++ = ฤทธิ์ดีมาก, ++ = ฤทธิ์ดีปานกลาง, + = ฤทธิ์น้อย, - = ไม่มีฤทธิ์

3.การเตรียมสารสกัดหยาบพลูสำหรับการแยกหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์

3.1.การเตรียมสารสกัดหยาบพลู

น้ำหนักของสารสกัดหยาบในรูปแห้งจำนวน 4 ชนิดของใบพลูแสดงในตารางที่ 10 พบว่าร้อยละของปริมาณสาร (% yield) ของสารสกัดหยาบชั้นน้ำมีปริมาณมากที่สุด (35.59%) ส่วนสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตมีปริมาณสารน้อยที่สุด (0.86%)

การเตรียมสารสกัดหยาบของใบพลูเป็น 4 ชนิดก็เพื่อแยกองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นในใบพลู ไปตามลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้แยกสกัด โดยสารสกัดหยาบเฮกเซนมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีขั้วต่ำสุด สารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีขั้วปานกลาง สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีขั้วปานกลางถึงสูง สารสกัดหยาบน้ำมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีขั้วสูง



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงการเตรียมสารสกัดหยาบพลู

ตารางที่ 10 น้ำหนักสารสกัดหยาบของพลู

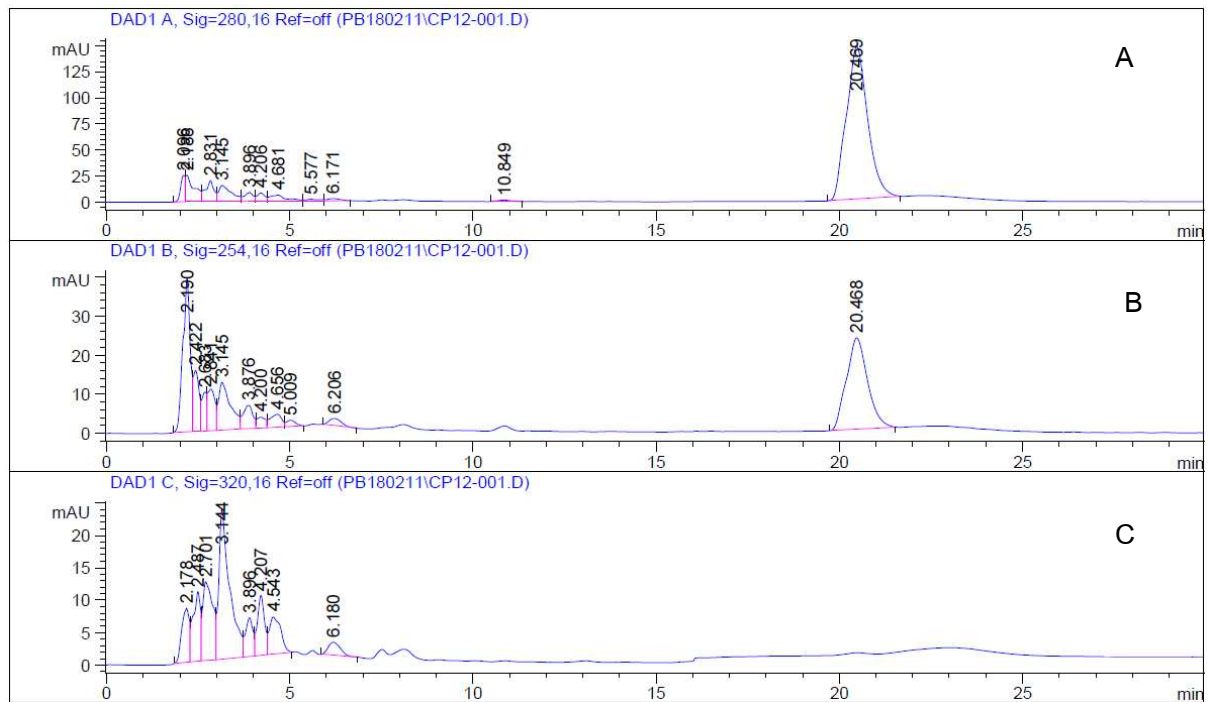
สารสกัดหยาบ	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละของปริมาณสาร (% yield)
เฮกเซน	1.0416	0.95
คลอโรฟอร์ม	4.3568	3.95
เอทิลอะซิเตต	0.9437	0.86
น้ำ	41.5503	35.59

3.2.การตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบพลูด้วยโครมาโทกราฟีของเหลว

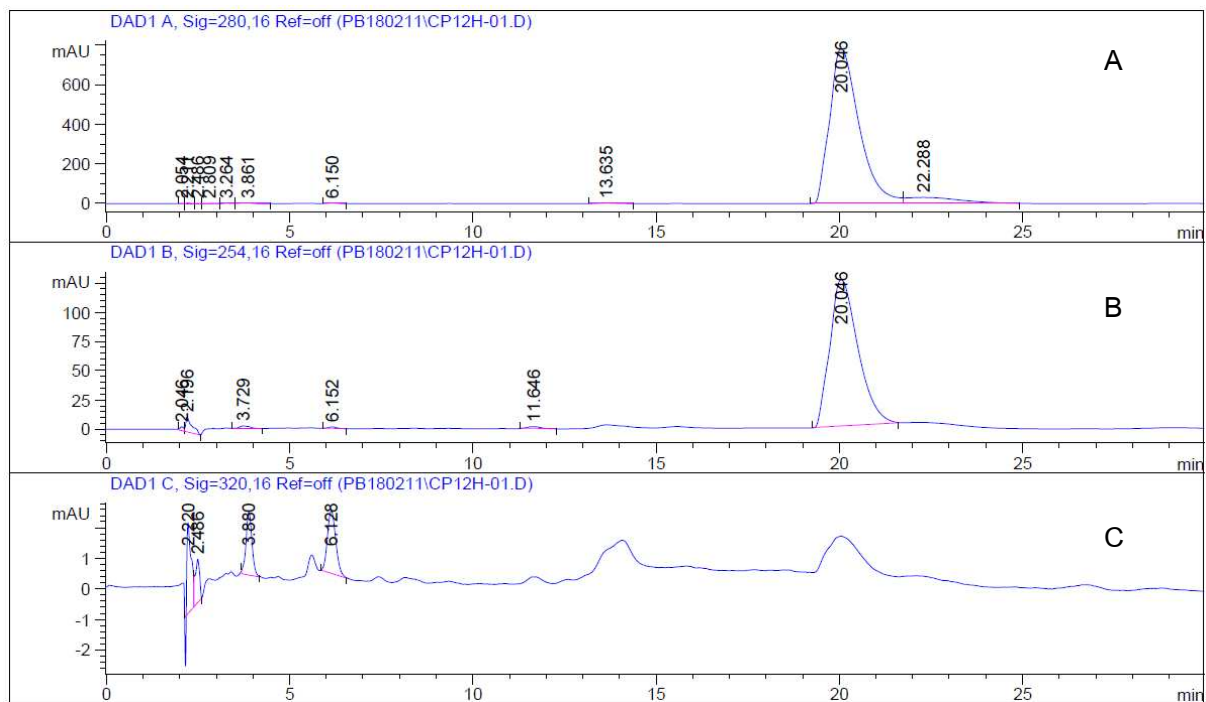
สมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)

สารละลายใสในน้ำต้มเดือดของใบพลูก่อนที่จะสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และสารสกัดหยาบของใบพลูเป็น 4 ชนิด ได้นำมาตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นโดยการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง HPLC chromatograms ของสารละลายใสในน้ำต้มเดือดของใบพลู และสารสกัดหยาบของใบพลู 4 ชนิด แสดงผลในรูปที่ 2-5 พบว่า HPLC chromatogram ของสารละลายใสในน้ำต้มเดือดของใบพลูก่อนที่จะสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (รูปที่ 2) ประกอบด้วยพีก (peak) เดียวที่เด่นชัด ที่เวลา 20.469 นาที ซึ่งมีการดูดกลืนแสงที่ดี และมีพีกเล็ก ๆ จำนวนมากหลายพีกซึ่งมีการดูดกลืนแสงน้อยที่เวลาก่อน 10 นาที เมื่อใช้ detector = 280 nm แต่เมื่อเปลี่ยน detector เป็น 254 หรือ 320 nm แล้ว พีกที่เวลา 20.469 นาที มีการดูดกลืนแสงลดลง จนไม่มีการดูดกลืนแสงที่ 320 nm เมื่อเปรียบเทียบกับพีกเล็ก ๆ จำนวนมากหลายพีกที่เวลาก่อน 10 นาที ส่วน HPLC chromatograms ของสารสกัดหยาบเฮกเซนและสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มของใบพลู จะมีรูปแบบ chromatogram ที่คล้ายคลึงกัน (รูปที่ 3-4) และมีรูปแบบคล้ายคลึงกับ chromatogram ของสารละลายใสในน้ำต้มเดือดของใบพลู (รูปที่ 2) ดังที่อธิบายข้างต้น HPLC chromatogram ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของใบพลู จะประกอบด้วยพีกเล็ก ๆ จำนวนมากหลายพีก ที่เวลาก่อน 10 นาที และมีพีกที่ 20.469 นาทีในปริมาณน้อย ส่วน HPLC chromatogram ของสารสกัดหยาบน้ำของใบพลู จะประกอบด้วยพีกเล็ก ๆ จำนวนมากหลายพีก ที่เวลาก่อน 10 นาที และไม่มีพีกที่ 20.469 นาที

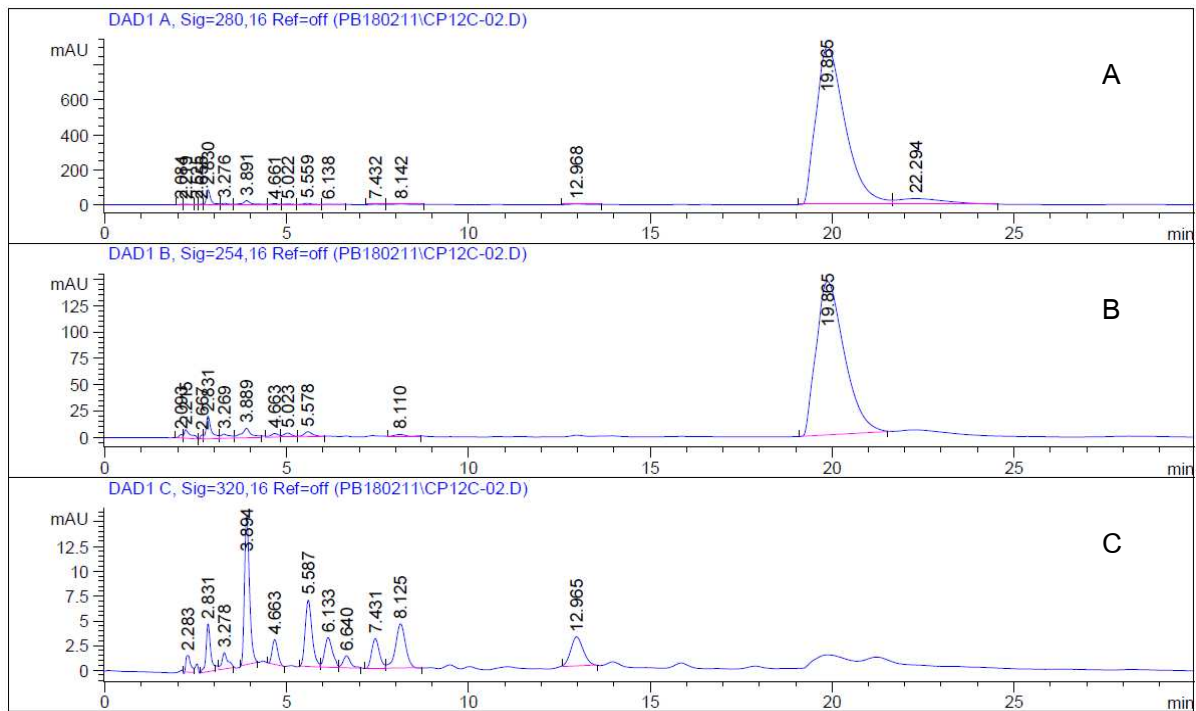
จากการเปรียบเทียบ HPLC chromatograms ในรูปที่ 2-5 อาจกล่าวได้ว่าพีกเล็ก ๆ จำนวนมากหลายพีก ที่เวลาก่อน 10 นาที นั้นน่าจะเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่มีขั้วสูง เนื่องจากพบอยู่ในชั้นน้ำหรือเอทิลอะซิเตตเป็นส่วนใหญ่ และพีกที่เวลา 20.469 นาที น่าจะเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่มีขั้วต่ำ เนื่องจากพบอยู่ในชั้นเฮกเซนและคลอโรฟอร์มเป็นส่วนใหญ่



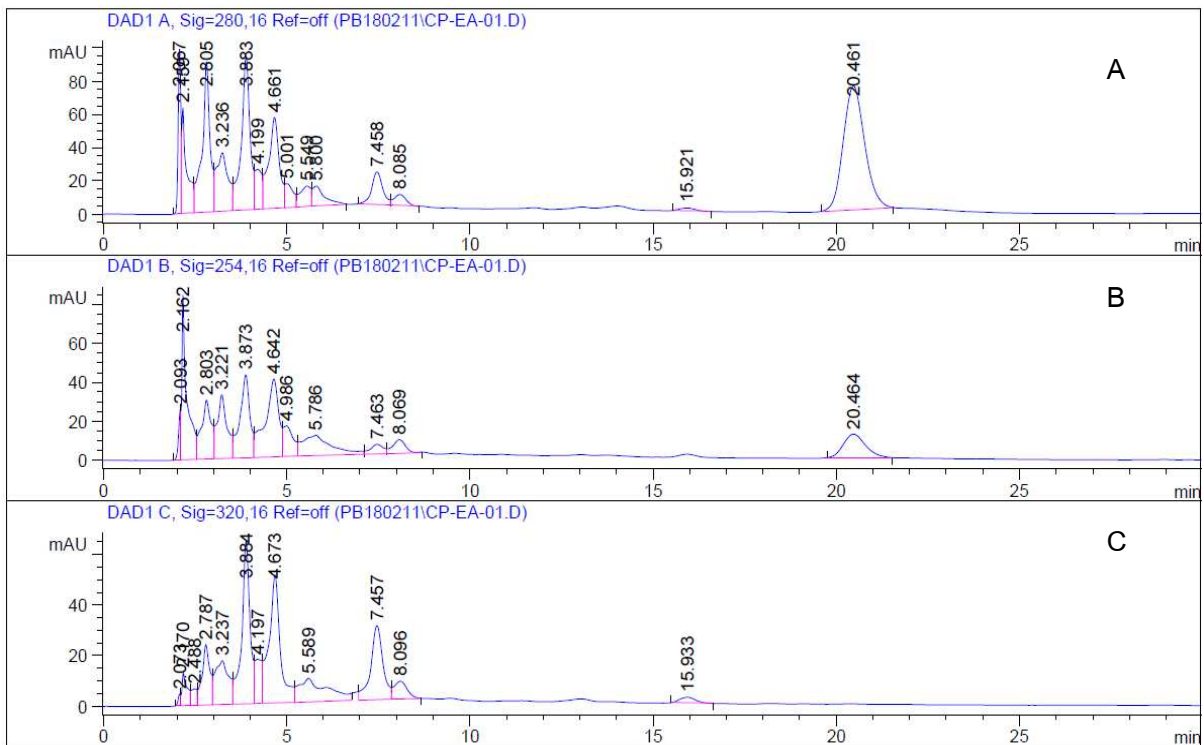
รูปที่ 2 HPLC chromatogram สารละลายในน้ำต้มเดือดของไบฟลู A. detector = 280 nm, B. detector = 320 nm, C. detector = 254 nm



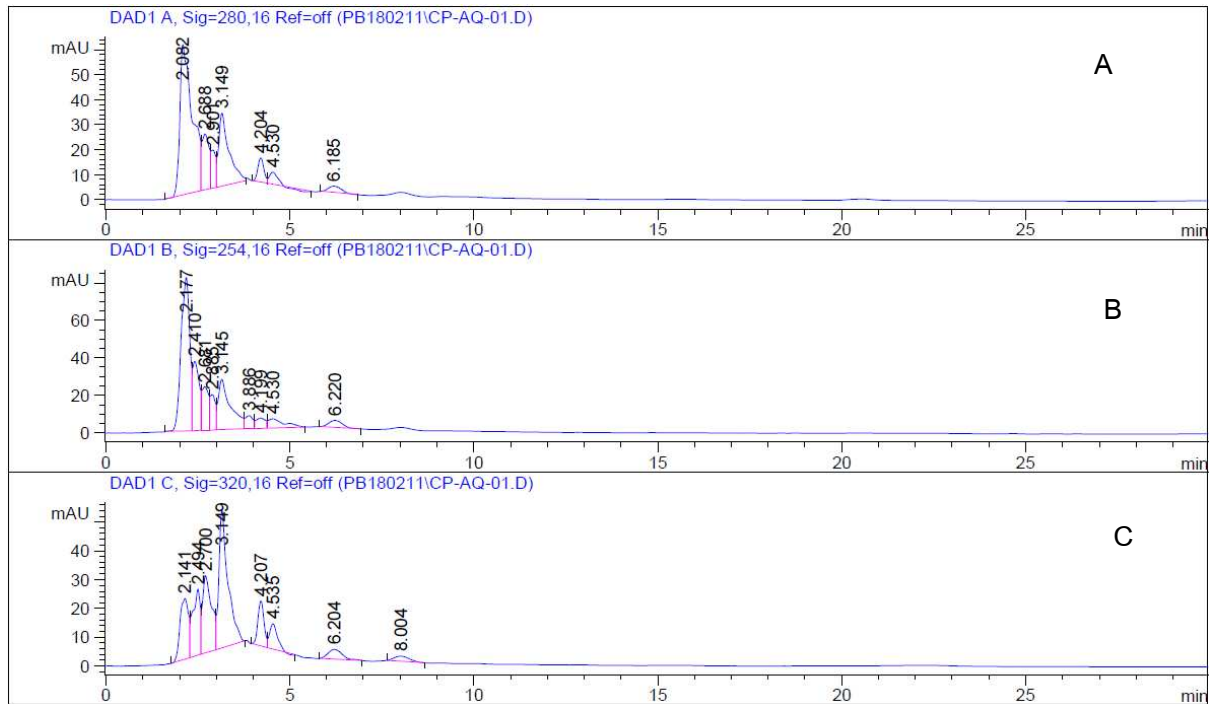
รูปที่ 3 HPLC chromatogram ของสารสกัดหยาบเข้เซนของไบฟลู A. detector = 280 nm, B. detector = 320 nm, C. detector = 254 nm



รูปที่ 4 HPLC chromatogram ของสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มของใบพลู A. detector = 280 nm, B. detector = 320 nm, C. detector = 254 nm



รูปที่ 5 HPLC chromatogram ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของใบพลู A. detector = 280 nm, B. detector = 320 nm, C. detector = 254 nm



รูปที่ 6 HPLC Chromatogram ของสารสกัดหยาดน้ำของใบพลู A. detector = 280 nm, B. detector = 320 nm, C. detector = 254 nm

3.3. การแยกสารสำคัญจากสารสกัดหยาดคลอโรฟอร์มจากใบของพลู

จากการพิจารณา HPLC chromatogram ของสารสกัดหยาดทั้ง 4 ชนิดของใบพลู ทางผู้วิจัยได้เลือกสารสกัดหยาดคลอโรฟอร์มของใบพลูมาแยกหาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ เนื่องจากสารสกัดหยาดนี้ประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีหลัก (พีกที่เวลา 20.469 นาที) คล้ายกับสารละลายไซในน้ำต้มเดือดของใบพลูก่อนที่จะสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และมีปริมาณสารเหมาะสม โดยการแยกหาสารสำคัญโดยอาศัยโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีวัฏภาคคงที่เป็น silica gel และวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต โดยเพิ่มปริมาณของเอทิลอะซิเตตครั้งละ 10 % จนถึง 100 % จากนั้นทำการเก็บและรวบรวม fraction ที่มีรูปแบบ TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน แล้วระเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุนและทำให้แห้งแบบระเหิดด้วยเครื่อง freeze-dryer ได้สารสกัดหยาดที่ผ่านการแยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟีจำนวน 10 fractions คือ PB1-PB10 โดยมีลักษณะและน้ำหนักในตารางที่ 11

จากนั้นนำ fraction PB6 ของสารสกัดหยาดคลอโรฟอร์มของใบพลู มาแยกหาสารสำคัญโดยทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ ซึ่งมีวัฏภาคคงที่เป็น silica gel เหมือนเดิมแต่วัฏภาคเคลื่อนที่ใช้ สารละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต โดยเพิ่มปริมาณของเอทิลอะซิเตตครั้งละ 1 % จนถึง 100 % จากนั้นทำการเก็บและรวบรวม fraction ที่มีรูปแบบ TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน แล้วระเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุนและทำให้แห้งแบบระเหิดด้วยเครื่อง freeze-dryer ได้สารสกัด

หยาบจำนวน 11 fractions คือ PB61-PB611 โดย fractions PB64 เป็นสารบริสุทธิ์ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลเหลืองน้ำตาล โดยมีร้อยละปริมาณสารเท่ากับ 1.69% ลักษณะและน้ำหนักของ fractions PB61-PB611 แสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 11 ลักษณะและน้ำหนักของ fractions ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มของใบพลูโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Fractions	ลักษณะของสาร	น้ำหนักของสาร (mg)
PB1	สารแห้งสีเหลือง	14.8
PB2	สารแห้งสีเหลืองส้ม	2.6
PB3	สารแห้งสีเหลือง	7.2
PB4	สารแห้งสีเหลือง	2.1
PB5	สารแห้งสีเหลือง	2.9
PB6	สารหนืดสีเขียวเข้ม	3,291.4
PB7	สารหนืดสีน้ำตาล	15.9
PB8	สารหนืดสีเหลืองส้ม	54.8
PB9	สารหนืดสีน้ำตาล	5.10
PB10	สารหนืดสีน้ำตาลเหลือง	216.5

ตารางที่ 12 ลักษณะและน้ำหนักของ fractions ที่ได้จากการแยก fraction PB6 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

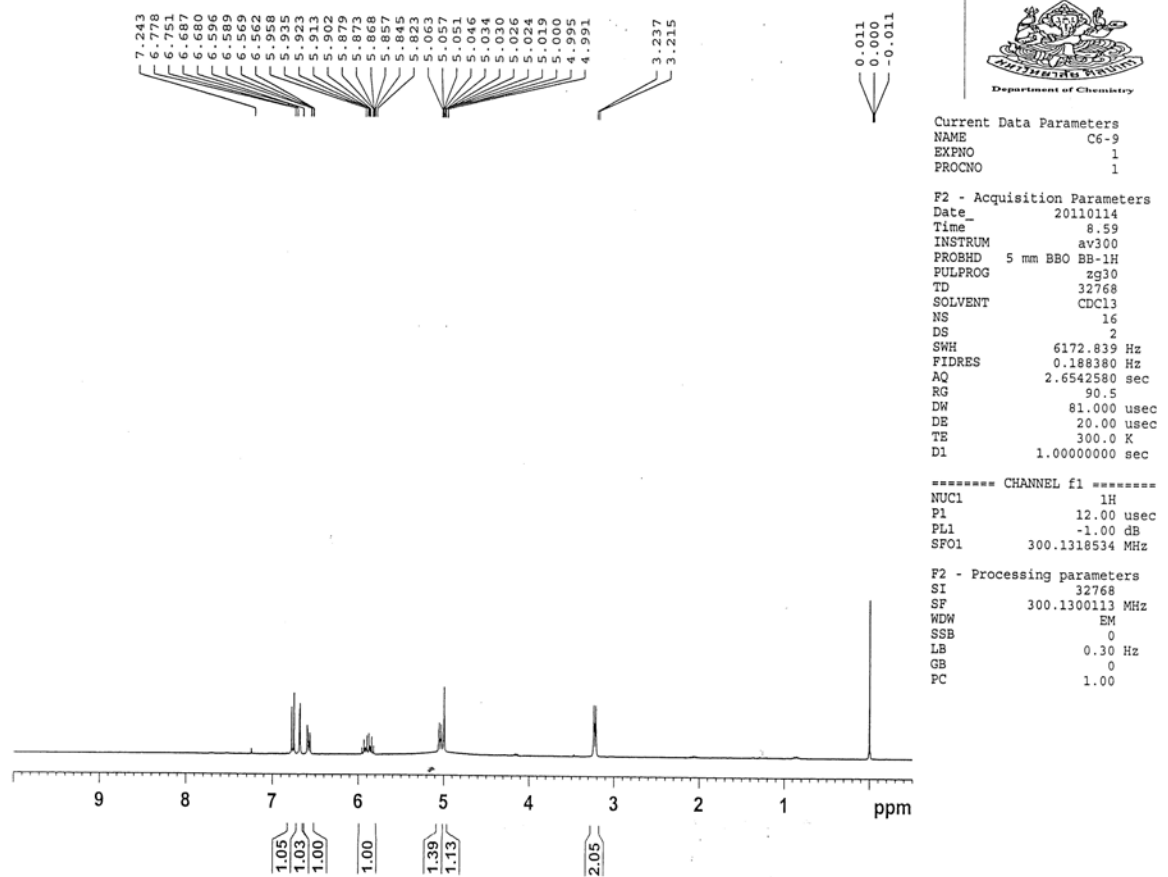
Fractions	ลักษณะของสาร	น้ำหนักของสาร (mg)
PB61	สารหนืดสีเหลือง	122.8
PB62	สารหนืดสีเหลือง	93.6
PB63	ของเหลวหนืดสีเหลืองน้ำตาล	463.2
PB64*	ของเหลวหนืดสีเหลือง	1,858.2
PB65	ของเหลวหนืดสีเหลืองน้ำตาล	292.8
PB66	ของเหลวหนืดสีเหลืองน้ำตาล	139.2
PB67	ของเหลวหนืดน้ำตาล	210.3
PB68	ของเหลวหนืดน้ำตาล	103.2
PB69	สารหนืด สีน้ำตาลส้ม	224.6
PB610	สารหนืด สีน้ำตาลอ่อน	136.4
PB611	สารหนืด สีน้ำตาลอ่อน	12.4

* สารบริสุทธิ์

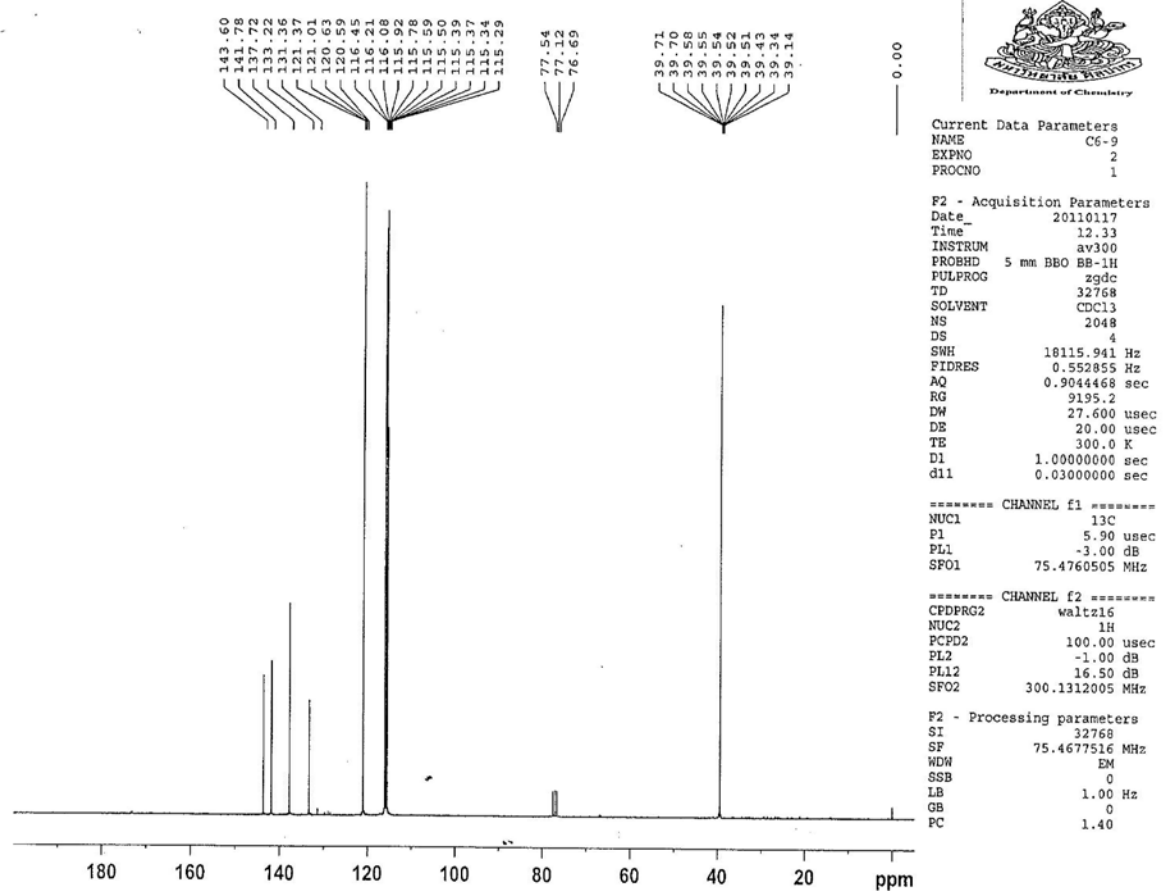
3.4. การพิสูจน์เอกลักษณ์สารโดยใช้วิธีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)

^1H -NMR และ ^{13}C -NMR spectrum ของ fraction PB64 ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์แสดงในรูปที่ 7 และ 8 ตามลำดับ ข้อมูลของ ^1H -NMR แสดงผลในรูปของค่า chemical shift (ppm) (multiplicity, coupling constant in hertz, จำนวนโปรตอน) และ ^{13}C -NMR แสดงผลในรูปของค่า chemical shift (ppm) ดังแสดงในตารางที่ 13 จากการทบทวนข้อมูล ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR กับสารเคมีองค์ประกอบที่เคยมีรายงานในวิจัยในพืชม พบว่า ข้อมูล NMR ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ มีความสอดคล้องกับข้อมูล NMR ของ hydroxychavicol หรือ 4-Allylpyrocatechol ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$) (83) โครงสร้างทางเคมีของ hydroxychavicol แสดงในรูปที่ 9 ข้อมูลของ ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ สามารถกำหนดตำแหน่งได้บนโครงสร้างของ hydroxychavicol ดังในตารางที่ 14 ดังนั้นสรุปได้ว่า สารบริสุทธิ์ที่แยกได้เป็น hydroxychavicol และเมื่อนำ PB64 ไปทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 4 วิธีดังกล่าวข้างต้น พบว่า PB64 มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีทั้ง 4 วิธี ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 15

Hydroxychavicol ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$) เป็นสารกลุ่มฟีนอลิกที่เป็นสารเคมีองค์ประกอบหลักที่พบได้ในสารสกัดชั้นน้ำของใบพืชม และมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือ ฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (46) ดังนั้นฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชมเป็นผลส่วนหนึ่งมาจากฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านการอักเสบของ hydroxychavicol ซึ่งเป็นองค์ประกอบเคมีหลักที่พบในใบพืชม



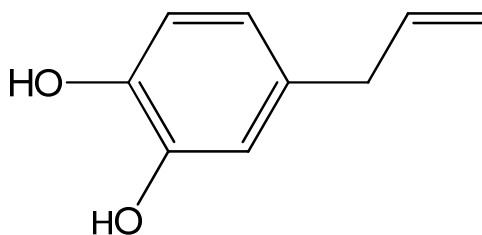
รูปที่ 7 ^1H -NMR spectrum ของ PB64



รูปที่ 8 ^{13}C -NMR spectrum ของ PB64

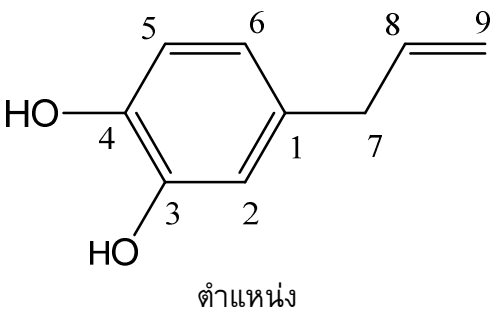
ตารางที่ 13 ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของ PB64

$^1\text{H-NMR}$ [chemical shift (multiplicity, coupling constant in Hz, number of protons)]	$^{13}\text{C-NMR}$ [chemical shift]
δ (ppm); 3.22 (d, j 6.6Hz, 2H), 4.99-5.1 (m, 2H), 5.8-5.95 (m, 1H), 6.58 (dd, j 8.1, 2.1 Hz, 1H), 6.68 (d, j 2.1 Hz, 1H), 6.77 (d, j 8.1 Hz, 1H)	δ (ppm); 39.52, 115.50, 115.78, 116.08, 121.01, 133.22, 137.72, 141.78, 143.6



รูปที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของของ hydroxychavicol

ตารางที่ 14 การกำหนดตำแหน่งของข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของ PB64 บนโครงสร้างทางเคมีของ hydroxychavicol

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$
		
1	-	133.22
2	6.77 (d, j 8.1 Hz, 1H)	115.50
3	-	143.60
4	-	141.78
5	6.68 (d, j 2.1 Hz, 1H)	115.78
6	6.58 (dd, j 8.1, 2.1 Hz, 1H)	121.01
7	3.22 (d, j 6.6 Hz, 2H),	39.52
8	5.8-5.95 (m, 1H)	137.72
9	4.99-5.1 (m, 2H),	116.08

ตารางที่ 15ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของ PB64

ตัวอย่าง	Assay			
	ABTS (mg trolox / gm sample)	ORAC ($\mu\text{mole trolox / gm sample}$)	NO scavenging (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)	$\text{O}_2^{\cdot-}$ scavenging (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)
PB64	1,089.0 $\pm$ 9.72	43,609.63 $\pm$ 1,180.28	30.34 $\pm$ 1.06	30.34 $\pm$ 1.06

Mean $\pm$ S.D., n=3,

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

สารสกัดหยาบชั้นน้ำของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดที่อยู่ในตำรายาจีนที่ใช้รักษามะเร็งจำนวน 6 ตำรับของตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) วัดปากคลองมะขามเฒ่า อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท คือ กลุ่มน้ำ กลุ่มบก ชั้นทองพยับบาท ข้าวเจ้า ข้าวเย็นหน่อ ข้าวเย็นใต้ เตยหอม ทิ้งถ่อน พริกขี้หนู พลู มะเกลือ มะเฟือง สับปะรด และหนอนตากหยาก ได้นำมาศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจำนวน 4 วิธีด้วย ABTS free radical decolorization assay, ORAC assay, nitric oxide scavenging activity assay และ superoxide radicals scavenging activity assay, ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 และฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 พบว่า สารสกัดหยาบสารสกัดหยาบแต่ละชนิดจะให้ผลการทดสอบในแต่ละวิธีที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบของหนอนตากหยาก พลู ทิ้งถ่อน และมะเกลือ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีปานกลางถึงดีมากในทั้ง 4 วิธี สารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรทุกชนิดมีฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 และมีเฉพาะสารสกัดหยาบของพลูเท่านั้นที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ดังนั้นพืชสมุนไพรพลูจึงถูกคัดเลือกในการศึกษาขั้นต่อไป สำหรับการแยกหาสารสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งดีที่สุดเพียงชนิดเดียว โดยในการแยกหาสารสำคัญของใบพลูใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ทำให้สามารถแยกหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีหลักของสารสกัดหยาบชั้นน้ำของใบพลูได้ คือ hydroxychavicol ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีในทั้ง 4 วิธีทดสอบ ดังนั้น คุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งของพืชสมุนไพรจำนวน 14 ชนิดที่อยู่ในตำรายาจีนสำหรับใช้รักษามะเร็งในตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร อาจเป็นผลส่วนหนึ่งมาจากพืชสมุนไพรเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์เหนี่ยวนำแอคติวิตีของเอนไซม์ heme oxygenase-1 และ/หรือฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ที่ดี

ข้อแนะนำสำหรับการทำวิจัยขั้นต่อไป ควรศึกษาแยกหาสารสำคัญเพิ่มเติมจากสารสกัดหยาบชั้นน้ำของใบพลู โดยเฉพาะสารองค์ประกอบทางเคมีส่วนน้อย (minor chemical compounds) เนื่องจากเป็นที่ทราบดีแล้วว่าสรรพคุณทางยาของพืชสมุนไพรนั้นอาจเป็นผลมาจากองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรทั้งที่เป็นองค์ประกอบหลักและองค์ประกอบส่วนน้อย รวมถึงการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันขององค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรด้วย นอกจากนี้ควรศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งทั้งตำรายาจีนในตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร ซึ่งในแต่ละตำรายาจะประกอบไปด้วยสมุนไพรหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดอาจมีการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันได้

บทที่ 5
เอกสารอ้างอิง

- (1) Balunas, M.J., Kinghorn, A.D. **2005**. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci.* 78, 431-441.
- (2) Surh, Y.J. **1999**. Molecular mechanisms of chemopreventive effect of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mut. Res.* 428, 305-327.
- (3) Russo, G.H. **2007**. Ins and Outs of Dietary phytochemicals in cancer chemoprevention *Biochem. Pharmacol.* 74, 533-544.
- (4) Chen, C.; Kong A.N. **2005**. Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects. *TREND in Pharmacol. Sci.* 26, 318-325.
- (5) พระครูนนทประภากร **2545** ตำรายาสมุนไพรของพระครูวิมลคุณากร (หลวงปู่ศุข) วัดปากคลองมะขามเฒ่า นนทบุรี
- (6) พฤษชาติสมุนไพร **2549** ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย มูลนิธิการแพทย์แผนไทยพัฒนา นนทบุรี
- (7) Benniamin, A., Manickam, V. S., Johnson, M., and Joseph, L. H. **2004**. Micropropagation of *Crataeva magna* (Lour.) DC.—A medicinal plant, *Ind. J. Biotechnol.* 3, 136–138.
- (8) Loganayaki N, Manian S. **2012**. Evaluation of Indian sacred tree *Crataeva magna* (Lour.) DC. for antioxidant activity and inhibition of key enzymes relevant to hyperglycemia *J. Biosci. Bioeng.* 113(3), 378-80.
- (9) Jahan, I.A., Nahar, N., Mosihuzzaman, M., Shaheen, F., Atta-Ur-Rahman, Choudhary, M.I. **2004**. Six new diterpenoids from *Suregada multiflora*. *J. Nat. Prod.* 67(11), 1789-95.
- (10) Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Cheenpracha, S., Yodsaoe, O., Ponglimanont, C., Karalai, C. **2011**. Anti-inflammatory principles of *Suregada multiflora* against nitric oxide and prostaglandin E2 releases *J. Ethnopharmacol.* 133, 63–66.
- (11) Bourinbaiar, A.S., Lee-Huang, S. **1996**. The activity of plant-derived antiretroviral proteins MAP30 and GAP31 against herpes simplex virus infection *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 219, 923–929.
- (12) Jahan, I.A., Nahar, N., Mosihuzzaman, M., Shaheen, F., Parween, Z., Atta-ur-Rahman, Choudhary, M.I., **2002**. Novel diterpene lactones from *Suregada multiflora*. *J. Nat. Prod.* 65, 932–934.

- (13) Cheenpracha, S., Yodsaoue, O., Karalai, C., Ponglimanont, C., Subhadhirasakul, S., Tewtrakul, S., Kanjana-opas, A. **2006**. Potential anti-allergic ent-kaurene diterpenes from the bark of *Suregada multiflora* *Phytochemistry* 67, 2630–2634.
- (14) นันทวัน บุญยประภัศร อรณัฐ โชคชัยเจริญพร **2541** สมุนไพรพื้นบ้าน 2 บริษัทประชาชน จำกัด กรุงเทพฯ พิมพ์ครั้งที่ 1
- (15) Cai, H., Hudson, E.A., Mann, P., Verschoyle, R.D., Greaves, P., Manson, M.M., Steward, W.P., Gescher, A.J. **2004**. Growth-inhibitory and cell cycle-arresting properties of the rice bran constituent tricin in human-derived breast cancer cells *in vitro* and in nude mice *in vivo*. *Br. J Cancer*. 91(7), 1364-1371.
- (16) Mori, H., Kawabata, K., Yoshimi, N., Tanaka, T., Murakami, T., Okada, T., Murai, H. **1999**. Chemopreventive effects of ferulic acid on oral and rice germ on large bowel carcinogenesis. *Anticancer Res*. 19(5A), 3775-3778.
- (17) Huang, S.T., Chen, C.T., Chieng, K.T., Huang, S.H., Chiang, B.H., Wang, L.F., Kuo, H.S., Lin, C.M. **2005**. Inhibitory effects of a rice hull constituent on tumor necrosis factor alpha, prostaglandin E2, and cyclooxygenase-2 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages. *Ann. NY Acad. Sci.* 1042, 387-395.
- (18) Shalini, V., Bhaskar, S., Kumar, K.S., Mohanlal, S., Jayalekshmy, A., Helen, A. **2012**. Molecular mechanisms of anti-inflammatory action of the flavonoid, tricin from Njavara rice (*Oryza sativa* L.) in human peripheral blood mononuclear cells: Possible role in the inflammatory signaling. *Int. Immunopharmacol.* 14(1), 32-38.
- (19) Wungsintaweekul, B., Umehara, K., Miyase, T., Noguch, H. **2011**. Estrogenic and anti-estrogenic compounds from the Thai medicinal plant, *Smilax corbularia* (Smilacaceae). *Phytochemistry* 72(6), 495-502.
- (20) Tewtrakul, S., Itharat, A., Rattanasuwan, P. **2006**. Anti-HIV-1 protease- and HIV-1 integrase activities of Thai medicinal plants known as Hua-Khao-Yen. *J. Ethnopharmacol.* 105(1-2), 312-315.
- (21) Yuan, J.Z., Dou, D.Q., Chen, Y.J., L, W., Kazuo, K., Tamotsu, N., Yao, X.S. **2004**. Studies on dihydroflavonol glycosides from rhizome of *Smilax glabra* *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 29(9), 867-870.
- (22) Chen, T., Li, J.X., Xu, Q. **2000**. *Phenylpropanoid glycosides from Smilax glabra*. *Phytochemistry* 53(8), 1051-1055.
- (23) Chen, T., Li, J., Cao, J., Xu, Q., Komatsu, K., Namba, T. **1999**. A new flavanone isolated from rhizoma *Smilacis glabrae* and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. *Planta Med.* 65(1),56-59.

- (24) Gao, Y., Su., Y, Qu, L., Xu, S., Meng, L., Cai, SQ., Shou, C. **2011.** Mitochondrial apoptosis contributes to the anti-cancer effect of *Smilax glabra* Roxb. *Toxicol. Lett.* 207, 112– 120.
- (25) Ooi, L.S., Wong, E.Y., Chiu, L.C., Sun, S.S., Ooi, V.E., **2008.** Antiviral and antiproliferative glycoproteins from the rhizome of *Smilax glabra* Roxb. (Liliaceae). *Am. J. Chin. Med.* 36, 185–195.
- (26) Sa, F., Gao, J.L., Fung, K.P., Zheng, Y., Lee, S.M., Wang, Y.T. **2008.** Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of *Smilax glabra* Roxb. extract on hepatoma cell lines. *Chem. Biol. Interact.* 171(1), 1-14
- (27) Jiang, J., Xu, Q. **2003.** Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of *Smilax glabra* in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 85(1), 53-59.
- (28) Fukunaga, T., Miura, T., Furuta, K., Kato, A. **1997.** Hypoglycemic effect of the rhizomes of *Smilax glabra* in normal and diabetic mice. *Biol. Pharm. Bull.* 20(1), 44-46.
- (29) Tan, M.A., Kitajima, M., Kogure, N., Nonato, M.G., Takayama, H. **2010.** Isolation of pandamarilactonine-H from the roots of *Pandanus amaryllifolius* and synthesis of epi-pandamarilactonine-H. *J. Nat. Prod.* 73(8), 1453-1455.
- (30) Salim, A.A., Garson, M.J., Craik, D.J. **2004.** New alkaloids from *Pandanus amaryllifolius*. *J. Nat. Prod.* 67(1), 54-57.
- (31) Ooi, L.S., Wong, E.Y., Sun, S.S., Ooi, V.E. **2006.** Purification and characterization of non-specific lipid transfer proteins from the leaves of *Pandanus amaryllifolius* (Pandanaceae). *Peptides* 27(4), 626-632.
- (32) Ooi, L.S., Sun, S.S., Ooi, V.E. **2004.** Purification and characterization of a new antiviral protein from the leaves of *Pandanus amaryllifolius* (Pandanaceae). *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 36(8), 1440-1446.
- (33) Chong, H.Z., Yeap, S.K., Rahmat, A., Akim, A.M., Alitheen, N.B., Othman, F., Gwendoline-Ee, C.L. **2012.** *In vitro* evaluation of *Pandanus amaryllifolius* ethanol extract for induction of cell death on non-hormone dependent human breast adenocarcinoma MDA-MB-231 cell via apoptosis. *BMC Complement Altern. Med.* 12(1), 134.
- (34) วุฒิ วุฒิธรรมเวช สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย **2540** สำนักพิมพ์เดียนสโตร์ กรุงเทพฯ
- (35) Yoshikawa, K., Satou, Y., Tokunaga, Y., Tanaka, M., Arihara, S., Nigam, S.K. **1998.** Four acylated triterpenoid saponins from *Albizia procera*. *J. Nat. Prod.* 61(4), 440-445.

- (36) Melek, F.R., Miyase, T., Ghaly, N.S., Nabil, M. **2007**. Triterpenoid saponins with N-acetyl sugar from the bark of *Albizia procera*. *Phytochemistry* 68(9), 1261-1266.
- (37) Miyase, T., Melek, F.R., Ghaly, N.S., Warashina, T., El-Kady, M., Nabil, M. **2010**. Echinocystic acid 3,16-O-bisglycosides from *Albizia procera*. *Phytochemistry* 71(11-12), 1375-1380.
- (38) Boonkird, S., Phisalaphong, C., Phisalaphong, M. **2008**. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab- and pilot-plant scale. *Ultrason. Sonochem.* 15(6), 1075-1079.
- (39) Stergiopoulou, T., De Lucca, A.J., Meletiadis, J., Sein, T., Boue, S.M., Schaufele, R., Roilides, E., Ghannoum, M., Walsh, T.J. **2008**. *In vitro* activity of CAY-1, a saponin from *Capsicum frutescens*, against *Microsporum* and *Trichophyton* species. *Med. Mycol.* 46(8), 805-810.
- (40) Ali, I., Khan, F.G., Suri, K.A., Guptam, B.D., Satti, N.K., Dutt, P., Afrin, F., Qazi, G.N., Khan, I.A. **2010**. *In vitro* antifungal activity of hydroxychavicol isolated from *Piper betle* L. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 9, 7-16.
- (41) Murata, K., Nakao, K., Hirata, N., Namba, K., Nomi, T., Kitamura, Y., Moriyama, K., Shintani, T., Iinuma, M., Matsuda, H. **2009**. Hydroxychavicol: a potent xanthine oxidase inhibitor obtained from the leaves of betel, *Piper betle*. *J. Nat. Med.* 63(3), 355-359.
- (42) Mula, S., Banerjee, D., Patro, B.S., Bhattacharya, S., Barik, A., Bandyopadhyay, S.K., Chattopadhyay, S. **2008**. Inhibitory property of the Piper betel phenolics against photosensitization-induced biological damages. *Bioorg. Med. Chem.* 16(6), 2932-2938.
- (43) Zeng, H.W., Jiang, Y.Y., Cai, D.G., Bian, J., Long, K., Chen, Z.L. **1997**. Piperbetol, methylpiperbetol, piperol A and piperol B: a new series of highly specific PAF receptor antagonists from *Piper betle*. *Planta Med.* 63(4), 296-298.
- (44) Saeed, S.A., Farnaz, S., Simjee, R.U., Malik, A. **1993**. Triterpenes and B-sitosterol from *Piper betle*: isolation, antiplatelet and anti-inflammatory effects. *Biochem. Soc. Trans.* 21(4), 462S.
- (45) Prakash, B., Shukla, R., Singh, P., Kumar, A., Mishra, P.K., Dubey, N.K. **2010**. Efficacy of chemically characterized Piper betle L. essential oil against fungal and aflatoxin contamination of some edible commodities and its antioxidant activity. *Int. J. Food Microbiol.* 142(1-2), 114-119.

- (46) Sharma, S., Khan, I.A., Ali, I., Ali, F., Kumar, M., Kumar, A., Johri, R.K., Abdullah, S.T., Bani, S., Pandey, A., Suri, K.A., Gupta, B.D., Satti, N.K., Dutt, P., Qazi, G.N. **2009**. Evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of hydroxychavicol for its potential use as an oral care agent. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53(1), 216-222.
- (47) Chakraborty, J.B., Mahato, S.K., Joshi, K., Shinde, V., Rakshit, S., Biswas, N., Choudhury, M.I, Mandal, L., Ganguly, D., Chowdhury, A.A., Chaudhuri, J., Paul, K., Pal, B.C., Vinayagam, J., Pal, C., Manna, A., Jaisankar, P., Chaudhuri, U., Konar, A., Roy, S., Bandyopadhyay, S. **2011**. Hydroxychavicol, a *Piper betle* leaf component, induces apoptosis of CML cells through mitochondrial reactive oxygen species-dependent JNK and endothelial nitric oxide synthase activation and overrides imatinib resistance. *Cancer Sci.* 103(1), 88-99.
- (48) Al-Adhroey, A.H., Nor, Z.M., Al-Mekhlafi, H.M., Amran, A.A., Mahmud, R. **2000**. Antimalarial activity of methanolic leaf extract of *Piper betle* L. *Molecules.*16(1),107-118.
- (49) Pushpavalli, G., Veeramani, C., Pugalendi, K.V. **2009**. Effect of *Piper betle* on plasma antioxidant status and lipid profile against D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *Redox Rep.* 14(1), 7-12.
- (50) Sarkar, D., Saha, P., Gamre, S., Bhattacharjee, S., Hariharan, C., Ganguly, S., Sen, R., Mandal, G., Chattopadhyay, S., Majumdar, S., Chatterjee, M. **2008**. Anti-inflammatory effect of allylpyrocatechol in LPS-induced macrophages is mediated by suppression of iNOS and COX-2 via the NF-kappaB pathway. *Int Immunopharmacol.* 8(9), 1264-1271.
- (51) Ganguly, S., Mula, S., Chattopadhyay, S., Chatterjee, M. **2007**. An ethanol extract of *Piper betle* Linn. mediates its anti-inflammatory activity via down-regulation of nitric oxide. *J. Pharm. Pharmacol.* 59(5), 711-718.
- (52) Wirotasangthong, M., Inagaki, N., Tanaka, H., Thanakijcharoenpath, W., Nagai, H. **2008**. Inhibitory effects of *Piper betle* on production of allergic mediators by bone marrow-derived mast cells and lung epithelial cells. *Int. Immunopharmacol.* 8(3), 453-457.
- (53) Santhakumari, P., Prakasam, A., Pugalendi, K.V. **2006**. Antihyperglycemic activity of *Piper betle* leaf on streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Med. Food.* 9(1),108-112.
- (54) Arambewela, L.S., Arawwawala, L.D., Ratnasooriya, W.D. **2005**. Antidiabetic activities of aqueous and ethanolic extracts of *Piper betle* leaves in rats. *J. Ethnopharmacol.* 102(2), 239-245.

- (55) Paphassarang, S., Michel Becchi, M., Raynaud, J. **1984**. A new diospyrol glycoside from *Diospyros mollis* Griff. *Tetrahedron Lett.*, 25(5), 523-526.
- (56) Yoshihira K, Natori S, Kanchanapee P. **1967**. The structure of diospyrol, the principle from the fruit of *Diospyros mollis*. *Tetrahedron Lett.* 8 (48), 4857-4860.
- (57) Maki, J., Kondo, A., Yanagisawa, T. **1983**. Effects of alcoholic extract from Ma-Klua (*Diospyros mollis*) on adults and larvae of the dwarf tapeworm, *Hymenolepis nana* in mice and on the infectivity of the eggs. *Parasitology.* 87,103-111.
- (58) Sadun, E., Vajrasthira, S. **1954**. The effect of maklua (*Diospyros mollis*) in the treatment of human hookworm. *J. Parasitol.* 40(1), 49-53.
- (59) Cazarolli, L.H., Kappel, V.D., Pereira, D.F., Moresco, H.H., Brighente, I.M., Pizzolatti, M.G., Silva, F.R. **2012**. Anti-hyperglycemic action of apigenin-6-C- β -fucopyranoside from *Averrhoa carambola*. *Fitoterapia* 83(7), 1176-1183.
- (60) Cabrini, D.A., Moresco, H.H., Imazu, P., da Silva, C.D., Pietrovski, E.F., Mendes, D.A., da Silveira Prudente, A., Pizzolatti, M.G., Brighente, I.M., Otuki, MF. **2011**. Analysis of the Potential Topical Anti-Inflammatory Activity of *Averrhoa carambola* L. in Mice. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 201, 1-7.
- (61) Soncini, R., Santiago, M.B., Orlandi, L., Moraes, G.O., Peloso, A.L., dos Santos, M.H., Alves-da-Silva, G., Paffaro, V.A. Jr, Bento, A.C., Giusti-Paiva, A. **2011**. Hypotensive effect of aqueous extract of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) in rats: an *in vivo* and *in vitro* approach. *J. Ethnopharmacol.* 133(2), 353-357.
- (62) Azeem, A.K., Molly, M, Chandramohan, N., Dilip. C, **2010**. Hepatoprotective effect of *Averrhoa carambola* fruit extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice *Asian Pacific J. Tropical Medicine*, 3(8), 610-613.
- (63) Shui, G., Leong, L.P. **2004**. Analysis of polyphenolic antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1022(1-2), 67-75.
- (64) Zheng, Z.P., Ma, J., Cheng, K.W., Chao, J., Zhu, Q., Chang, R.C., Zhao, M., Lin, Z.X., Wang, M. **2010**. Sulfur-containing constituents and one 1H-pyrrole-2-carboxylic acid derivative from pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] fruit. *Phytochemistry* 71(17-18), 2046-2051.
- (65) Ma, C., Xiao, S.Y., Li, Z.G., Wang, W., Du, L.J. **2007**. Characterization of active phenolic components in the ethanolic extract of *Ananas comosus* L. leaves using high-performance liquid chromatography with diode array detection and tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1165(1-2), 39-44.

- (66) Hördegen, P., Cabaret, J., Hertzberg, H., Langhans, W., Maurer, V. **2006**. *In vitro* screening of six anthelmintic plant products against larval *Haemonchus contortus* with a modified methyl-thiazolyl-tetrazolium reduction assay. *J. Ethnopharmacol.* 108(1), 85-98.
- (67) Báez, R., Lopes, M.T., Salas, C.E., Hernández, M. **2007**. *In vivo* antitumoral activity of stem pineapple (*Ananas comosus*) bromelain. *Planta Med.* 73(13), 1377-1383.
- (68) Xie, W., Wang, W., Su, H., Xing, D., Cai, G., Du, L. **2007**. Hypolipidemic mechanisms of *Ananas comosus* L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins. *J. Pharmacol. Sci.* 103(3), 267-274.
- (69) Xie, W., Wang, W., Su, H., Xing, D., Pan, Y., Du, L. **2006**. Effect of ethanolic extracts of *Ananas comosus* L. leaves on insulin sensitivity in rats and HepG2. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 143(4), 429-435.
- (70) Taira, .T, Toma, N., Ishihara, M. **2005**. Purification, characterization, and antifungal activity of chitinases from pineapple (*Ananas comosus*) leaf. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69(1), 189-196.
- (71) Sripanidkulchai, B., Wongpanich, V., Laupattarakasem, P., Suwansaksri ,J., Jirakulsomchok, D. **2001**. Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats. *J. Ethnopharmacol.* 75(2-3), 185-190.
- (72) Xu, Y.T., Shaw, P.C., Jiang, R.W., Hon, P.M., Chan, Y.M., But, P.P. **2010**. Antitussive and central respiratory depressant effects of *Stemona tuberosa*. *J. Ethnopharmacol.* 128(3), 679-684.
- (73) Lin, L.G., Li, K.M., Tang, C.P., Ke, C.Q., Rudd, J.A., Lin, G., Ye, Y. **2008**. Antitussive stemoninine alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa*. *J. Nat .Prod.* 71(6), 1107-1110.
- (74) Li, Z., Sturm, S., Stuppner, H., Schraml, E., Moser, V.A., Siegl, V., Pfragner, R. **2007**. The dichloromethane fraction of *Stemona tuberosa* Lour inhibits tumor cell growth and induces apoptosis of human medullary thyroid carcinoma cells. *Biologics.* 1(4), 455-463.
- (75) Lin, L.G., Yang, X.Z., Tang, C.P., Ke, C.Q., Zhang, J.B., Ye, Y. **2008**. Antibacterial stilbenoids from the roots of *Stemona tuberosa*. *Phytochemistry.* 69(2), 457-463.
- (76) Brem, B., Seger, C., Pacher, T., Hartl, M., Hadacek, F., Hofer, O., Vajrodaya, S., Greger H. **2004**. Antioxidant dehydrotocopherols as a new chemical character of *Stemona* species. *Phytochemistry.* 65(19), 2719-2729.
- (77) Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggemnte, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. **1999**. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decororization assay. *Free Radical Biology & Medicine.* 26, 1231-37.

- (78) Huang D., Ou B., Hampsch – Woodill M, Flanagan JA, **2002**. Prior RL. High throughout assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using multi channel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96 – well format. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4437-4444.
- (79) Sreejayan N and Rao, M.N. **1997**. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J. Pharm. Pharmacol.* 49, 105-107.
- (80) Ewing, J.F., Janero, D.R., **1995**. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generator. *Anal. Biochem.* 232, 243-248.
- (81) Kirtikara, K., Swangkul, S., Ballou, L.R. **2001**. The analysis of nonsteroidal anti-inflammatory drug selectivity in prostaglandin G/H synthase (PGHS)-null cells. *Inflamm. Res.* 50, 327-332.
- (82) Foresti, R., Hoque, M., Monti, D., Green, C.J., Motterlini, R., **2005**. Differential activation of heme oxygenase-1 by chalcones and rosolic acid in endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 312(2), 686-693.
- (83) Bhattacharya, S.; Banerjee, D.; Bauri, A.K.; Chattopadhyay, S.; Bandyopadhyay, S.K. **2007**. Healing property of the Piper betel phenol, allylpyrocatechol against indomethacin-induced stomach ulceration and mechanism of action *World J. Gastroenterol.* 13(27), 3705-3713.

ภาคผนวก
ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล ไพบุญ นันทนากรณ์

Paiboon Nuntanakorn

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม 73000

โทรศัพท์ 034-255800 ext 24313 โทรสาร 034-255801

3. ประวัติการศึกษา

2548 Ph.D. (Biology), The City University of New York, USA

2546 M.A. (Biology), Lehman College, USA.

2539 ภ.ม. (เภสัชเคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2535 ภ.บ. (เกียรตินิยมอันดับ 2) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. สาขาที่มีความเชี่ยวชาญ

Natural Product Chemistry

Analytical Chemistry

5. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

5.1 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสาร

Huang Y, Jiang B, **Nuntanakorn, P**, Kennelly EJ, Shord, S, Lawal TO, Mahady GB
Fukinolic acid derivatives and triterpene glycosides from black cohosh inhibit CYP
isozymes, but are not cytotoxic to Hep-G2 cells in vitro. *Curr Drug Saf.* **2010**; 5 (2): 118-
124.

Nuntanakorn P, Jiang B, Yang H, Cervantes-Cervantes M, Kronenberg F, Kennelly EJ.
Analysis of polyphenolic compounds and radical scavenging activity of four American
Actaea species *Phytochemical Analysis* **2007**; 18 (3): 219 – 228.

Jiang B, Kronenberg F, **Nuntanakorn P**, Qiu MH, Kennelly EJ. Evaluation of the botanical authenticity and phytochemical profile of black cohosh products by high-performance liquid chromatography with selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. *J Agric Food Chem.* **2006**;54(9):3242-3253.

Einbond LS, Shimizu M, **Nuntanakorn P**, Seter C, Cheng R, Jiang B, Kronenberg F, Kennelly EJ, Weinstein IB. Actein and a fraction of black cohosh potentiate antiproliferative effects of chemotherapy agents on human breast cancer cells. *Planta Med.* **2006**;72(13):1200-12006.

Nuntanakorn P, Jiang B, Einbond LS, Yang H, Kronenberg F, Weinstein IB, Kennelly EJ. Polyphenolic constituents of *Actaea racemosa* *J. Nat. Prod.* **2006**; 69:314-318.

Jiang B, Yang H, **Nuntanakorn P**, Balick MJ, Kronenberg F, Kennelly EJ. The value of plant collections in ethnopharmacology: a case study of an 85-year-old black cohosh (*Actaea racemosa* L.) sample. *J. Ethnopharmacol.* **2005**; 96(3): 521-528.

Einbond LS, Shimizu M, Xiao D, **Nuntanakorn P**, Lim JT, Suzui M, Seter C, Pertel T, Kennelly EJ, Kronenberg F, Weinstein IB. Growth inhibitory activity of extracts and purified components of black cohosh on human breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.* **2004**; 83(3): 221-231.

Nuntanakorn P. Black cohosh: A Review. *Silpakorn University International Journal.* 2004; 4 (1-2): 118-134.

Lupu R, Mehrmi I, Atlas E, Tsai MS, Pisha E, Oketch-Rabah HA, **Nuntanakorn P**, Kennelly EJ, Kronenberg F. Black cohosh, a menopausal remedy, does not have estrogenic activity and does not promote breast cancer cell growth. *Int. J. Oncol.* **2003**; 23(5): 1407-1412.

Kennelly EJ, Baggett S, **Nuntanakorn P**, Ososki AL, Mori SA, Duke J, Coletton M, Kronenberg F. Analysis of thirteen populations of black cohosh for formononetin. *Phytomedicine.* **2002**; 9(5): 461-467.

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล ไชยวัฒน์ ไชยสุต

Chaiyavat Chaiyasut

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทรศัพท์ 053 – 944343 , 053 - 9444340

3. ประวัติการศึกษา

2544 Ph.D. (Applied Chemistry), University Nagoya Institute of Technology Nagoya
JAPAN

2539 ภ.ม. (เภสัชเคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2535 ภ.บ. (เกียรตินิยมอันดับ 1) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.สาขาที่มีความเชี่ยวชาญ

Applied Chemistry, Antioxidants

5. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

5.1 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสาร

1. **C. Chaiyasut**, S. Kitagawa, T. Tsuda. Chromatography, 20(2)(1999), 164-165
2. **C. Chaiyasut**, T.Tsuda, S.Kitagawa, H.Wada, T.Monde, Y.Nakabeya Journal of Microcolumn Separation,11(1999), 590-595
3. **C. Chaiyasut** , S. Kitagawa , T. Tsuda. Chromatography , 20(1999) , 25 - 26
4. **C.Chaiyasut**, S.Kitagawa, H.Wada, T.Tsuda. Analytical Science, 16(2000), 413-416
5. **C. Chaiyasut**, Y.Takatsu, S. Kitagawa, T. Tsuda. Chromatography, 21(2000), 322-324
6. **C.Chaiyasut**, Y.Takatsu, S.Kitagawa, T.Tsuda. Electrophoresis, 22(2001),1267-1272
7. **C.Chaiyasut**, T.Tsuda. Chromatography, 22(2001), 91-95
8. **C. Chaiyasut**, T. Tsuda. Chromatography , 22(2001) , 11-12
9. **C.Chaiyasut**, T.Tsuda. Chromatography, 23(2002), 33-38
10. S. Kitagawa, K. Mitsuya, **C. Chaiyasut**, T. Tsuda. Journal of Separation Science, 26(2003), 1169-1174
11. **C. Chaiyasut**. Chiang Mai University Journal, 2(2003), 115- 124

5.2 การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

1. T. Tsuda, S. Kitagawa, C. Chaiyasut. H. Tashita. 2nd International Symposium on Capillary Electrochromatography. Sanfrancisco, USA, 1998.8.24-25
2. C. Chaiyasut , T. Tsuda , S. Kitagawa , H. Wada , T. Monde , Y. Nakabeya .Nihon Bunseki Kagaku Gakkai Dai 47 Nenkai. Gifu university, Japan, 1998.10.6-8
3. C. Chaiyasut , Y. Sato , S. Kitagawa , T. Tsuda . The 60th Analytical Chemistry Society Symposium Japan, 1999. 5.15-16
4. S. Kitagawa, C. Chaiyasut, T.Tsuda. 2nd International Symposium on Capillary Chromatography
Nagaragawa Conventional Center, Gifu, Japan, 1999.11.8-12
5. Priliminary Study of Antibacterial Activity of Biologically Fermented Product from Plant S. Panjaisi, C. Chaiyasut, S. Boumonkon. The Fourth National Seminar on Pharmaceutical Biotechnology
Chiang Mai, Thailand, September 10-12, 2002
6. Antibacteria and Antiyeast Activity of Biologically Fermented Products From Plant. C. Chaiyasut, S. Panjaisi, S. Sirilun. 1st Pharmaceutical Science Symposium on Herbal Products Development to Global Market . Chiang Mai, Thailand, August 16-18, 2003
7. DPPH Radical Scavenging Activity of Biologically Fermented Products from *Morinda citrifolia* Linn. C. Chaiyasut, S. Chansakaow, K. Panyakad, S. Peerajan, J. Julsikaiwan. The Fifth National Seminar on Pharmaceutical Biotechnology. Chiang Mai, Thailand, September 3-5, 2003
8. ABTS Radical Scavenging Activity of Biologically Fermented Products from *Morinda citrifolia* Linn.. C. Chaiyasut, S. Peerajan. Congress on Science and Technology of Thailand 2003
Khon Kaen, Thailand, October 20-22, 2003
9. Antimicrobial Activity of Some Fermented Herb Juices and Mouthwash Containing Fermented Herb Products. C. Chaiyasut, S. Sirilun, O. Meenuan, S. Panjaisi. JSPS-NRCT Core University System on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences, Bangkok, Thailand, December 2-4, 2003
10. Antioxidant Activity of Some Fermented Herb Juices .C. Chaiyasut, T. Charoenrat, S. Peerajan, S. Chansakaow. International Joint Meeting on Food Factors and Free Radicals in Health & Disease (FFFR2003), Kyoto, Japan, December 4-7, 2003

11. Safety Evaluation of Fermented Medicinal Plant Juices as the Bio-fertilizer and Beverage
C. Chaiyasut, S. Sirilun, S. Panjaisri, B. Liawrungrath, S. Suwanketnikom, T. Charoenrat, D. Santiarwarn, M. Suttajit The 15th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and JSPS- NRCT Conference Chiang Mai, Thailand, February 3-6, 2004
12. Antioxidant Properties of Fermented Medicinal Plant Juice Containing *Morinda citrifolia* Linn.
C. Chaiyasut, S. Peerajan, C. Sanjoom, S. Suttajit. Free radical meeting 2004, Free radicals and disease: gene expression cellular metabolism and pathophysiology. Spetses, Greece, 21 September – 1 October 2004

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล ไมตรี สุทธจิตต์
Maitree Suttajit

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์ เกียรติคุณ
คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา
โทรศัพท์ 054-466666 ต่อ1752

3. ประวัติการศึกษา

2513 Ph.D. (Biochemistry), University of New York at Buffalo, N.Y.,USA.,
2507 M.Sc. (Biochemistry), Mahidol University,
2505 B.Sc. (Chemistry, Honored), Chulalongkorn University

4.สาขาที่มีความเชี่ยวชาญ

Biochemistry of carcinogenesis; tumor markers, tumor promoters and cancer prevention environmental toxicology; Biochemical toxicology; ELISA development; lectins; nutrition, AIDS , medicinal herbs, antioxidants, aflatoxins

5. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

5.1 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสาร (From 1990 -2007)

- 1) Vinitketkamnue Kawkramuk, P., Buddhasukh, D. and **Suttajit, M.**,
Mutagenicity activity of stevioside in bacteria, *Salmonella typhimurium* Strain TA98,
Stevia Research, 1990; 107-111.
- 2) Meevatee U., Pinsaeng, K., Keereeta, O., Buddhasuk, D. and **Suttajit, M.**,
Effects of stevioside and steviol on human chromosomes, Stevia Research, 1990; 112-119.
- 3) **Suttajit M**, Srisathaporn, S., Sakorn, P, Kungwantrakul, W. and Wongchai, V.,Development of home-made enzyme immunoassay reagents for serum tumor markers: CEA, AFP, beta-HCG, in Cancer Overview,
- 4) **Suttajit M**,(Editor) Proceedings of the First Cancer Research Symposium, April 1990, CMU. Star Press, Chiang Mai, 1991.

- 5) Fujiki H, Suganuma M, Suguri S, Yoshizawa K, Takagi M, Hirota T, Sassa T, Richter WW, Uda N., Suttajit M., Wongchai V. and Sugimura T, Tumor promoters and anti-tumor promoters, in Environmental Mutagens, Carcinogens and Teratogens: Principles and Short-Term Assays, Star Press, Chiang Mai, 1991; 209-230.
- 6) **Suttajit M**, Evaluation and risk assessment of short-term tests. Manual for Short-term Assays for Mutagens, Carcinogens, and Teratogens, (in Thai), Faculty of Medicine, CMU. 1991; 109-138,
- 7) **Suttajit M**, Srisathaporn S, Sakorn P, Kungwantrakul V, Wonchai V. Development of home-made enzyme immunoassay reagents for serum tumor markers: CEA, -HCG and AFP. Cancer Overview. 1991; 91-95.
- 8) **Suttajit M**, Mitacek E, Martin N. Toxicological study of traditional tobacco smoking related to high incidence of lung cancer in Chiang Mai. Proceedings of Environmental and Occupational Health-Toxicological Studies, July 22-24, 1993. Kobe, Japan.
- 9) **Suttajit M**, Vinitketkamnuen U, Meevatee U, Buddhasuk D., Mutagenicity and human chromosomal effect of stevioside, a sweetener from *Stevia rebaudiana*, Bertoni. Environmental Health Perspectives Suppl. 101S, NIEHS, USA. 1993; 53-56
- 10) Sakai S, Katsura M, Takayama H, Aimi N, Chokethaworn N, **Suttajit M**. The structure of garcinone E. Chem. Pharm. Bull 41(5). 1993; 958-960.
- 11) Limtrakul P, **Suttajit M**, Semura R, Shimada, Shimada I, Yamamoto S. Suppressive effect of soybean milk protein on experimentally induced skin tumor in mice. Life Sciences. 1993; 53: 1591-6.
- 12) Toskulkao C, Sutheera M, Wanichanone C, Saitongdee P, **Suttajit M**. Effects of stevioside and steviol on intestinal glucose absorption in hamsters, J Nutri Sci Vitaminology. 1994;
- 13) Brunnermann D, Mitacek E, Liu Y, Limsila T, **Suttajit M**, Assessment of major carcinogenic tobacco-specific N-nitrosamines in Thai cigarettes. Cancer Detection and Prevention, 1995; 20(2): 114-121.
- 14) Suttajit S. **Suttajit M**. Determination of vitamin E in plant seeds, their products and seeds oil, Nutrition J. (Thai) 1995; 25: 117-123.
- 15) Ueno Y; Nagata S; Tsutsumi T; Hasegawa A; Yoshida F; **Suttajit M**; Mebs D; Putsch M; Vasconcelos V: Survey of microcystins in environmental water by a highly sensitive immunoassay based on monoclonal antibody. Nat-Toxins. 1996; 4(6): 271-6.

- 16) **Suttajit** M, Current status of aflatoxin and its control in Thailand, J. Toxicological Sciences, Suppl. II, 1997; Vol. 23: 173-176.
- 17) Mitacek EJ, Brunnemann KD, **Suttajit** M, Martin N, Limsila T, Ohshima H, Caplan LS. Exposure to N-nitroso compounds in a population of high liver cancer regions in Thailand: volatile nitrosamine (VNA) levels in Thai food. *Food Chem Toxicol*. 1999 Apr;37(4):297-305.
- 18) Mitacek EJ, Brunnemann KD, Hoffmann D, Limsila T, **Suttajit** M, Martin N, Caplan LS. Volatile nitrosamines and tobacco-specific nitrosamines in the smoke of Thai cigarettes: a risk factor for lung cancer and a suspected risk factor for liver cancer in Thailand. *Carcinogenesis*. 1999 Jan;20(1):133-7.
- 19) Pongbangpo S., Sang-Arun J., Tocharus J., and **Suttajit** M. Scavenging Effect of ABTS Radical by Trolox, Naresuan University Journal, Vol. 7, 1999,1-5.
- 20) **Suttajit** M., Morakot N., Imai K., Nakachi K. and Fujiki H., Meeting Report: Takeo Wada Cancer Research Symposium in Chiang Mai. *Jpn. J. Cancer Res.*, 2001, 92: 582-585.
- 21) **Suttajit**, M. and Suttajit, S., Antioxidant: Compounds for Disease Prevention and Health Promotion, *MSU. J.*, Vol. 21 No. 1 May-August 2002, 57-62.
- 22) **Suttajit** M., Suttajit S., Evaluation of Antioxidative Activity in Different Rice Grains and Bran, *MSUJ*, 2004, 23, No.2, 63-68
- 23) **Suttajit** M, Antioxidant approach for AIDS treatment, Proceedings of the Asia-Pacific Conference for Clinical Biochemistry, Chiang Mai, Thailand, 1999;
- 24) Mitacek E. , Brunnermann D, Liu Y, Limsila T, **Suttajit** M, Volatile nitrosamines and tobacco-specific nitrosamines in the smoke of Thai cigarettes: a risk factor for lung cancer and a suspected risk factor for liver cancer in Thailand. *Carcinogenesis*. 1999 Jan; 20(1): 133-7.
- 25) Mitacek EJ, Brunnemann KD, **Suttajit** M, Martin N, Limsila T, Ohshima H, Caplan LS. Exposure to N-nitroso compounds in a population of high liver cancer regions in Thailand: volatile nitrosamine (VNA) levels in Thai food. *Food Chem Toxicol* 1999 Apr;37(4):297-305.
- 26) Nakachi K, Limtrakul P, Sonklin P, Sonklin O, Jarern CT, Lipigorngoson S, Arai K, Sone Y, Imai K, Suga K, Matsuyama S, Shimizu H, Takahashi T, **Suttajit** M. Risk factors for lung cancer among Northern Thai women: epidemiological, nutritional, serological, and bacteriological surveys of residents in high- and low-incidence areas. *Jpn J Cancer Res* 1999 Nov;90(11):1187-95.

- 27) Komutarin T., Azadi S., Butterworth L., Keil D., Chitsomboona B., **Suttajit M.**, Meade B.J.. Extract of the seed coat of *Tamarindus indica* inhibits nitric oxide production by murine macrophages *in vitro* and *in vivo*, Food and Chemical Toxicology 2004, 42: 649-5658.
- 28) **Suttajit M.**, Siriwan S. , Evaluation of antioxidative activity in different kinds of rice grains and bran, J. Sci. Tech. MSU, 2005, 23 : No 2
- 29) Siriamornpun S., Li D., Yang L., Suttajit S., **Suttajit M.**, Variation of lipid and fatty acid compositions in Thai perilla seeds grown in different locations, Songklanakarin J. Sci. Technol. PSU, 2006, 28(Suppl. 1): 17-21.
- 30) Siriamornpun S., Li D., Yang L., Kanchanamayoon **W.**, **Suttajit M.**, Thai jute seed oil: a potential polyunsaturated fatty acid source, Songklanakarin J. Sci. Technol. PSU, 2006, 28(Suppl. 1): 11-15.
- 31) Brunnemann KD, Mitacek EJ, **Suttajit M.**, Thira Limsila T. , Bhothisuwan K., Charles F. , Hummel CF and Parnlob W. Assessment of Genotoxic Benzene and other Selected Gas-Phase Compounds in the Smoke of Thai Cigarettes, an Increased Risk for Smoking-Induced Leukemia in Thailand. J. Sci. Tech. MSU, 2006, Vol. 24. No. 1
- 32) **Suttajit, M.** Advances in nutrition support for the quality of life in HIV+/AIDS. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. Jan-Feb. 2007. 2007;(16) Suppl. 1:318-322