

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

จากยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2555-2559) ที่เน้นการพัฒนาคุณค่าความหลากหลายทางชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่น เพื่อนำไปสู่การพัฒนาบนฐานความหลากหลายทางชีวภาพในระยะยาว โดยใช้หลักเศรษฐกิจพอเพียงเป็นแนวทางสำคัญ ส่งเสริมการใช้ความหลากหลายทางชีวภาพในการสร้างความมั่นคงของภาคเศรษฐกิจท้องถิ่นและชุมชน รวมทั้งพัฒนาขีดความสามารถและสร้างนวัตกรรมจากทรัพยากรชีวภาพที่เป็นเอกลักษณ์ของประเทศ โดยภูมิประเทศของประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนชื้น ทำให้เป็นแหล่งรวบรวมความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตต่างๆ เช่น พืชพรรณต่างๆ ที่มีอยู่หลากหลายชนิดที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร เช่น นำมาใช้เป็นแหล่งอาหาร ไม้ดอกไม้ประดับ หรือการแพทย์ เช่น พัฒนายา หรือพืชสมุนไพร เป็นต้น

สมุนไพรไทยนำมาใช้ทั้งเป็นอาหาร และยาพื้นบ้านมาอย่างช้านาน จนเป็นเอกลักษณ์ของชาติ และในปัจจุบันคนไทยกลับมานิยมใช้พืชสมุนไพรในการรับประทานและรักษาโรคต่าง ๆ อย่างกว้างขวางมากขึ้น เช่น ทองพันชั่ง ฟ้ายะลวยโจร และกวาวเครือ เป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่มีสรรพคุณที่สามารถรักษาได้หลายอาการ ตัวอย่างเช่น ทองพันชั่ง มีสรรพคุณในการรักษาโรคไขข้ออักเสบ เบาหวาน และมะเร็ง เป็นต้น ซึ่งพืชบางชนิดมีข้อมูล และงานวิจัยทั้งทางองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างเพียงพอในการสนับสนุนให้มีการนำมาใช้รักษาอาการ และส่งเสริมสุขภาพ โดยเฉพาะการวิจัยหาสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเนื้องอก หรือมะเร็ง

ปัจจุบันโรคมะเร็งยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญมากทั้งระดับประเทศและระดับโลก เนื่องจากมะเร็งบางชนิดไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ และมีอัตราการตายสูง ซึ่งการค้นคว้าเกี่ยวกับสารสกัดจากพืชที่ต้านมะเร็งได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยอย่างมาก เนื่องจากยาต้านมะเร็งที่มีอยู่ในขณะนี้ มีฤทธิ์ข้างเคียงที่รุนแรง และมีราคาแพง และต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ รวมทั้งยาต้านมะเร็งมีการทำลายเซลล์ปกติด้วย งานวิจัยในด้านสารสกัดจากธรรมชาติโดยเฉพาะพืชในสกุลต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ และมีผลกระทบต่อเซลล์ปกติน้อยมาก

พืชสกุลอังกาบ (*Barleria* L.) อยู่ในวงศ์ Acanthaceae เป็นพืชสกุลใหญ่ และนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพร พืชสกุลนี้พบทั่วไปในเขตแห้งแล้งของเขตร้อนทั่วโลก มีประมาณ 300 สปีชีส์ มีความเชื่อว่าพืชในสกุล *Barleria* มีการแพร่จากประเทศญี่ปุ่น เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินเดีย แอฟริกา หรือเกาะมาดากัสการ์ไปยังทวีปอเมริกา และเม็กซิโก ซึ่งมีการกระจายมากในแถบ Old World เช่น ในทวีปแอฟริกา โดยมีความหลากหลายของพืชในสกุล *Barleria* บริเวณเขตอบอุ่นด้านตะวันออกประมาณ 80 สปีชีส์ และตอนใต้ประมาณ 70 สปีชีส์ สำหรับอเมริกาพบเพียง *B. oenotheroides* เพียงสปีชีส์เดียวเท่านั้น (Balkwill และ Balkwill, 1998) โดย Balkwill และ Balkwill (1997) ศึกษาและรายงานการจัดจำแนกพืชในสกุล *Barleria* ออกเป็น 2 สกุลย่อย (subgenera) คือ สกุลย่อย *Barleria* และ *Prionitis* และแบ่งออกเป็น 7 หมู่ (section) โดยสกุลย่อย *Barleria* มี 2 หมู่ คือ *Barleria* และ *Chrysanthrix* และสกุลย่อย *Prionitis* มี 5 หมู่ คือ *Caviostratal*, *Stellatohirta*, *Fissimura*, *Somalia* และ *Prionitis* ซึ่งต่างจากการแบ่งแบบเดิมที่เป็น 3 สกุลย่อย คือ *Barleria*, *Somalia* และ *Prionitis* (Balkwill และ Balkwill, 1997) โดยหมู่ *Barleria* และ *Prionitis* มีการ

กระจายอยู่ทั่วไป แตกต่างจาก *Somalia*, *Fissimura* และ *Stellatohirtae* ที่มีการแพร่กระจายอยู่เฉพาะทวีป Africa สำหรับหมู่ *Chrysothrix* และ *Cavirostrata* มีการแพร่กระจายอยู่มากในประเทศ India และ Sri Lanka (Balkwill และ Balkwill, 1998) ซึ่งส่วนใหญ่ลักษณะที่สำคัญที่ใช้ในการจำแนกพืช ได้แก่ การจัดเรียงตัวของหลอดกลีบดอก ลักษณะโครงสร้างของยอดเกสรเพศเมีย ตำแหน่งของวงเกสรเพศผู้ รูปร่างและโครงสร้างของผล การมีหรือไม่มีตะขอ ตำแหน่งผนังกั้นผล และจำนวนเมล็ด ซึ่งการจัดจำแนกมีอิทธิพลมาจากสภาพแวดล้อม และต้องใช้เวลา เช่นการออกดอกตามฤดูกาล รวมทั้งพบว่ามี ความหลากหลายของลักษณะ เช่นลักษณะของลำต้นมีตั้งแต่ไม้พุ่ม และไม้เลื้อย การเรียกชื่อสามัญตามท้องถิ่นต่างๆที่แตกต่างกัน จึงอาจมีความสับสนแก่การจัดจำแนก จึงควรมีการบ่งชี้สายพันธุ์ และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุลของพืชในสกุลนี้ ทั้งเพื่อการบ่งชี้สายพันธุ์ การอนุรักษ์พันธุ์ และหาสารสกัดจากสายพันธุ์ต่างๆ อย่างจำเพาะมากขึ้น

สารสกัดจากพืชในสกุลนี้โดยส่วนใหญ่ใช้เป็นยาสมุนไพรในการรักษาอาการไอ ขับเหงื่อ และขับเสมหะ (Singh และคณะ, 2005) ต้านเชื้ออักเสบ ต้านการอักเสบ และใช้เป็นสารคุมกำเนิด (Singh และคณะ, 2003; Gupta และคณะ, 2000) เช่น เสดดพังพอน (*B. lupulina*) มีฤทธิ์ในการลดน้ำตาล และมีความสามารถในการต้านอาการอักเสบ (Suba และคณะ, 2004a; 2004b; 2005) สำหรับอังกาบหนู (*B. prionitis*) มีความสามารถทำให้เกิดความเป็นหมันในหนูหรือนำมาใช้เป็นสารคุมกำเนิดได้ (Gupta และคณะ, 2000; Verma และคณะ, 2005) แต่ข้อมูลการวิจัยของอังกาบ (*B. cristata* L.) ยังไม่มีรายงาน

ในประเทศไทยพบพืชสกุลอังกาบได้ในพื้นที่แห้งแล้ง รกร้าง ป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง และป่าดิบแล้งของทุกภาคของทั่วประเทศ จำนวน 5 ชนิด (Hansen, 1985) และในการประชุมสัมมนาพิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยาของกรมวิชาการเกษตร และสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย ประจำปี 2552 เรื่องการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชของกรมวิชาการเกษตร และสถานการณ์การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ทรัพยากรพันธุกรรมพืชในประเทศไทย แสดงให้เห็นว่าพบพืชในสกุลอังกาบอย่างน้อย 8 ชนิด คือ อังกาบเขา (*B. biloba*), อังกาบ (*B. cristata* L.), เท้าฤาษี (*B. longiflora* L.), เสดดพังพอน (*B. lupulina* Lindl.), อังกาบหนู (*B. prionitis* L.), *B. polytricha* Wall., ระวัง (*B. siamensis* Craib) และสังกรณี (*B. strigosa* Willd.) โดยเชื่อว่า อังกาบเขา และระวัง เป็นแหล่งพรรณไม้ในประเทศไทย ซึ่งพบว่าในแต่ละสปีชีส์จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน เช่นลักษณะสีดอก ทั้งลักษณะยากในการกำหนดขอบเขตที่แน่นอน อีกทั้งปัญหาของชื่อพ้อง และในประเทศไทยนำพืชสกุลอังกาบมาใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น นำอังกาบมาปลูกเป็นไม้ดอกและไม้ประดับ หรือนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพร เช่น เสดดพังพอน อังกาบหนู และสังกรณี เป็นต้น (นันทวัน และอรนุช, 2543a; นันทวัน และอรนุช, 2543b) โดยปัจจุบันมีเฉพาะข้อมูลด้านองค์ประกอบทางเคมีบางสปีชีส์เท่านั้น เช่น เสดดพังพอน แต่ไม่มีรายงานข้อมูลทางในการจัดจำแนกในระดับโมเลกุลทั้งในระดับสกุล และสปีชีส์ของพืชในสกุล *Barleria*

ในงานวิจัยนี้ นอกจากการบ่งชี้สายพันธุ์ด้วยเทคนิคทางโมเลกุลในพืชสกุล *Barleria* แล้ว ยังทำการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบของอังกาบ (*B. cristata* L.) ที่สกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตท และเอทานอล แบบ Maceration และนำมาทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ไลน์บางชนิด เช่น เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในหนู (P388) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์ไตลิง (Vero cell) ด้วยวิธี MTT assay โดยข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยมีส่วนช่วยสนับสนุน

หรือส่งเสริมการพัฒนาวิธีการใช้สารสกัดมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง รวมทั้งการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์จะทำให้ทราบถึงทั้งระดับความเข้มข้น และความปลอดภัยได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 บ่งชี้สายพันธุ์ของพืชสกุลอังกาบ (*Barleria* sp.) จากจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย โดยใช้เทคนิคทางโมเลกุล

1.2.2 ศึกษาความหลากหลายและการกระจายทางพันธุกรรม และส่งเสริมเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชของประเทศ

1.2.3 ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบของอังกาบ (*B. cristata* L.) ที่มีผลต่อความอยู่รอดของเซลล์ปกติ และเซลล์มะเร็งบางชนิดที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งต่อการเจริญของเซลล์มะเร็งโดยวิธี MTT assay

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และบ่งชี้สายพันธุ์ของพืชสกุลอังกาบจากจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย โดยศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เทคนิคทางโมเลกุล คือ Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) และ DNA Sequencing บริเวณ *trnL* UAA 5' exon – *trnF* GAA ของ chloroplast DNA (cpDNA) และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบของอังกาบ (*B. cristata* L.) กับเซลล์ไลน์บางชนิด

1.4 ทฤษฎีและกรอบแนวคิดของการวิจัย

ในประเทศไทยมีทั้งพืชประจำถิ่น และนำเข้าหรือกระจายมาจากต่างประเทศ การศึกษาความหลากหลายของพืชในสกุลอังกาบที่นิยมใช้เป็นพืชสมุนไพร นอกจากเป็นการบ่งชี้สายพันธุ์ การกระจาย และเป็นข้อมูลพืชพรรณที่เป็นเอกลักษณ์ของประเทศ โดยเฉพาะอังกาบเขา (*B. biloba*) และระงับ (*B. siamensis* Craib) ที่มีความเชื่อว่ามีแหล่งพรรณไม้ในประเทศ นอกจากนั้นพืชสมุนไพรมีคุณค่าและมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ และมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคต่างๆ ได้แตกต่างกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดก่อนการนำมาใช้ประโยชน์ จึงควรมีการบ่งชี้สายพันธุ์ และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ความเป็นพิษต่อเซลล์ทั้งในเซลล์ปกติ และเซลล์มะเร็ง

1.5 คำสำคัญของการวิจัย

สกุลอังกาบ (*Barleria* sp.), อังกาบ (*Barleria cristata* L.), ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity), สารสกัดหยาบ (crude extract), ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) และเทคนิค MTT (Methyl tetrazolium assay)

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การวิจัยนี้จะช่วยสนับสนุนการวิจัยทางด้านการจำแนกสายพันธุ์ของพืชในสกุลอังกาบด้วยเทคนิคทางโมเลกุลซึ่งยังไม่มีข้อมูลการศึกษาในประเทศไทย ความผันแปรทางพันธุกรรม รวมทั้งศึกษาการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาทดสอบกับเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็งบางชนิด ซึ่งในขั้นแรกนี้เป็น

การทดสอบด้วยสารสกัดอย่างหยาบ อันนำไปสู่ข้อมูลทั้งทางเภสัชวิทยา พิษวิทยาในอนาคต และโอกาสพัฒนาไปเป็นยา ดังนี้

- 1.6.1 เพื่อบ่งชี้ และทราบความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชในสกุลอังกาบ
- 1.6.2 เพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช และการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืชในประเทศไทย
- 1.6.3 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากใบของต้นอังกาบในหลอดทดลอง
- 1.6.4 เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาหาสารประกอบต่างๆ และองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญต่อไป
- 1.6.5 เพื่อช่วยพัฒนาและเพิ่มคุณค่าของพืชสมุนไพรให้มีมูลค่าทางการค้ามากขึ้น
- 1.6.6 มีบทความวิจัยในการนำเสนอทั้งในระดับประเทศ และนานาชาติ