ชื่อโครงการ การศึกษาฤทธิ์ชักนำให้เกิด apoptosis และฤทธิ์ต้านมะเร็งในหนูทดลองของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่ม *Ocimum* spp. และผักพื้นบ้านอื่นๆเพื่อการนำไปใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง

The studies of apoptosis induction and anti-cancer activities in rat of *Ocimum* spp. and others domestic vegetables extracts for cancer therapy

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2556 จำนวนเงิน 891,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี 3 เดือน ตั้งแต่ 1 กันยายน 2555 ถึง 31 ธันวาคม 2556

ผู้วิจัย นายพงศธร ธรรมถนอม[1] ผศ.ดร.ธีระ ชิโวนรินทร์[3]
นางสาวกรวรรณ ศรีงาม[2] นางประทุมพร ยิ่งธงชัย[4]
นางสาวบาจรีย์ ฉัตรทอง[1]

บทคัดย่อ

ในโครงการวิจัยนี้ต้องการศึกษาพืชผักในกลุ่ม Ocimum spp. ด้านฤทธิ์ทางชีวเคมีเพื่อหาสารสกัดที่น่าสนใจในการพัฒนายาต้านมะเร็งต่อไป โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity) ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและฤทธิ์ชักนำให้เซลล์มะเร็ง HT-29 HepG2 และ HL-60 เกิดการตายแบบ apoptosis ฤทธิ์ต่อเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ HL-60 และฤทธิ์ต่อการป้องกันการเกิดรอยโรคเริ่มต้นของมะเร็งลำไส้ใหญ่ในหนูทดลอง จากงานวิจัยสามารถรวบรวมผักทั้งสิ้น 4 ชนิดคือ โหระพา (*O. basilicum* L.) กระเพราขาวและแดง (*O. sanctum* L.) และแมงลัก (*O. americana* L.) ผลิตสารสกัดหยาบได้ทั้งสิ้น 8 ตัวอย่าง โดยสกัดด้วย methanol และ dichloromethane จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดด้วย methanol จากกระเพราแดงแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (302.33 ± 0.03 μmol trolox equivalent/g. sample) ใบและยอดแมงลัก แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้งสามชนิดที่ใช้ในการทดสอบคือ HT-29 Hep G2 และ HL-60 ได้ดีที่สุดในกลุ่มของสารสกัดที่นำมาทำการทดสอบ (IC_{50} = 0.24±0.07 0.12±0.17 และ 0.72±0.24 μg/ml เมื่อทำการทดสอบในเซลล์ HT-29 HepG2 และ HL-60 ตามลำดับ) และดีกว่า Irinothecan ซึ่งเป็น positive control เมื่อทดสอบใน HT-29 และ Hep G2 ประมาณ 1.63 และ 3.25 เท่า

ตามลำดับ สารสกัดด้วย methanol จากใบและยอดของแมงลัก สามารถชักนำให้ เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ไปเป็นลักษณะ single large vesicle และพบ nuclear condensation ได้ตั้งแต่ 6 ชั่วโมง (Hep G2) 24-96 ชั่วโมง (HT-29) และ 24-48 ชั่วโมง (HL-60) ของการทดสอบ และสามารถชักนำให้เกิด DNA fragmentation ใน HL-60 ที่ 48 ชั่วโมง และที่ 24 ชั่วโมงใน Hep G2 สารสกัดจากใบและยอดของแมงลัก กระตุ้นการสังเคราะห์ TNF-a ของเซลล์ทดสอบได้มากที่สุดที่ 6 และ 24 ชั่วโมง (297.1+0.07 pg/ml ที่ 6 ชั่วโมง ของสารสกัดแมงลักด้วย methanol และ 267.9+0.07 pg/ml ที่ 24 ชั่วโมง ของสารสกัดแมงลักด้วย dichloromethane) ผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับฤทธิ์ของสารสกัดดังกล่าวในการกระตุ้นให้ HL-60 เกิด apoptosis ได้ (ยืนยันด้วยการพบการเกิด DNA fragmentation) และสามารถลดขนาดของ ACF ในลำไส้หนูทดสอบลง 59.1 % เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 25 มก./กก.น้ำหนักหนู จากผลการทดลองทั้งหมดที่ได้จากโครงการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชที่รวบรวมมาทำการทดสอบทั้ง 8 ตัวอย่างนี้มีคุณสมบัติเด่นแตกต่างกันไป ซึ่งควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลในการพัฒนาไปเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

ABSTRACT

The objectives of this study were to collected and prepared the vegetables in Ocimum spp., to investigate the antioxidant (DPPH radical scavenging), anti-proliferation, apoptosis induction (morphological changes and DNA fragmentation induction) immunomodulating activities and effect on the preneoplastic lesion of rat colon cancer in the initiation phase.

"Ho-ra-pa" (*O. basilicum* L.), "Kra-prao-kao" and "Kra-prao-dang" (*O. Sanctum* L) and "Mang-lux" (*O. Americana* L.) were collected and 8 extracts prepared (using 8 using methanol and dichloromethane extraction). The methanolic extract of "Kra-prao-dang" shows the highest anti-oxidant (302.33±0.03 μmol trolox equivalent/g.sample). Methanolic extraction of "Mang-lux" leafs show the highest anti-proliferation activities (IC_{50} = 0.24±0.07 0.12±0.17 and 0.72±0.24 μg/ml in HT-29 HepG2 and HL-60, respectively) in which 1.63 and 3.25 times stronger than Irinothecan, in HT-19 and HepG2, respectively. They can induce the morphological changes, single large vesicle and nuclear condensation, in those 3 cancer cells within 6-48 hours and induce DNA fragmentation within 48 hr in HL-60 and HepG2. They also activate the TNF-a secretion

from HL-60 within 24 hours (297.1+0.07 pg/ml of methanolic extract and 267.9+0.07 pg/ml of dichloromethane extract from "Mang-lux" leafs) and decrease the ACF volume by 59.1% when 25 mg/Kg. body weight of methanolic extract of "Mang-lux" were treated. The results from this study can be applied for the development of the northern Thai indigenous plant extracts for pharmaceutical or neutraceutical products.

[1] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 2453 โทรสาร 0 5394 2478

[2] ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 4089 ต่อ 21 โทรสาร 0 5322 5221

[3] ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 5325 โทรสาร 0 5389 4031

[4] หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 4080 โทรสาร 0 5389 2217

คำสำคัญ : *O. basilicum* L., *O. sanctum* L., *O. americana* L., MTT, Cytotoxic, Apoptosis, Anti-oxidant, Immunomodulating activity, IL-10, TNF-a, ACF,