แบบสรุปผู้บริหาร

การศึกษาศักยภาพการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของพืชผักสมุนไพรไทย เพื่อป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต

Studies on ultraviolet-absorbing potential, antioxidant efficiency and cytotoxicity on keratinocyte cells of Thai medicinal herbs for prevention of ultraviolet

โดย

ผศ. ดร. เทวิน เทนคำเนาว์ และคณะ

ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

2554

แบบสรุปผู้บริหาร

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

(ภาษาไทย) การศึกษาศักยภาพการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของพืชผักสมุนไพรไทย เพื่อป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต

(ภาษาอังกฤษ) Studies on ultraviolet-absorbing potential, antioxidant efficiency and cytotoxicity on keratinocyte cells of Thai medicinal herbs for prevention of ultraviolet

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

1.2.1 หัวหน้าโครงการ

ชื่อ - นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เทวิน เทนคำเนาว์

หน่วยงาน ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ติดต่อ ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
154 ถ.พระราม 1 แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 02-218-1081 ต่อ 313, 087-6962277 **โทรสาร** 02-218-1082

E-mail tewin.t@chula.ac.th

1.2.2 ผู้ร่วมงานวิจัย

ชื่อ - นามสกุล นางสาววิสาข์ ทองระกาศ

ตำแหน่ง นิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีคลินิกและอณูทางการแพทย์

หน่วยงาน ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ติดต่อ 154 ถ.พระราม 1 แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 02-218-1089, 087-541-6325 **โทรสาร** 02-218-1082

E-mail ployvisa@gmail.com

1.2.3 ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

ชื่อ - นามสกุล รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี

ตำแหน่ง ที่ปรึกษาวิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ติดต่อ ถ.พญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 081-9179541 **โทรสาร** 02-2532395 และ 02-2552177

E-mail nijsiri.r@chula.ac.th

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 งบประมาณที่ได้รับ 447,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัยตั้งแต่วันที่ 10 เดือน สิงหาคม ปี 2554 ถึง วันที่ 10 เดือน สิงหาคม ปี 2555

2. สรุปโครงการวิจัย

2.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา

เป็นที่ทราบกันดีว่าพืชผักสมุนไพรไทยมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้งในด้านของการป้องกันการเกิดโรค และการใช้รักษาโรค แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูล หรือหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ ที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชผักสมุนไพรไทยที่ส่งผลต่อการป้องกันการเกิดโรค และการใช้รักษาโรค ยังไม่ค่อยเป็นที่ปรากฏเท่าใดนัก เนื่องจากในปัจจุบันชั้นโอโซนในบรรยากาศบางลงมาก ส่งผลให้รังสีอัลตราไวโอเลต โดยเฉพาะรังสีอัลตราไวโอเลตบี ส่องถึงบริเวณพื้นผิวโลกเพิ่มขึ้น และก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์มากขึ้น ดังนั้นเมื่อเซลล์ผิวหนังสัมผัสกับรังสีอัลตราไวโอเลตบี จะส่งผลให้เกิดอันตรายต่าง ๆ ขึ้นได้ เนื่องจากเป็นรังสีอัลตราไวโอเลตบีสามารถกระตุ้นให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอ (DNA damage) กระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะ reactive oxygen species (ROS) รวมถึงกระตุ้นให้อัตราการตายของเซลล์เพิ่มมากขึ้น (induced apoptosis) และอาจส่งผลให้เกิดมะเร็งผิวหนังขึ้นในที่สุด ซึ่งในช่วงหลายปีมานี้มีการศึกษารายงานว่าสารประกอบโพลีฟีนอลที่พบได้ในพืชผัก ผลไม้หลากหลายชนิด สามารถปกป้องและส่งเสริมกระบวนการซ่อมแซมเซลล์ผิวหนังให้กลับคืนสู่สภาวะปกติหลังจากถูกทำลายด้วยรังสีอัตราไวโอเลตบีได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความประสงค์จะศึกษาฤทธิ์ของสารประกอบโพลีฟีนอลจากสารสกัดของพืชผักสมุนไพรไทยต่อการป้องกันและหรือซ่อมแซมเซลล์ผิวหนังมนุษย์ที่ถูกทำลายด้วยรังสีอัตราไวโอเลตบี ผลของการศึกษาในโครงการวิจัยนี้สามารถนำไปสู่การสร้างองค์ความรู้ใหม่ และเพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาเพื่อป้องกัน และรักษาโรคมะเร็งผิวหนัง และการชะลอการเหี่ยวแก่ของเซลล์ผิวหนัง โดยใช้สารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทย รวมถึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชผักสมุนไพรไทยได้อีกทางหนึ่ง

2.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของพืชผักสมุนไพรในการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต
2. เพื่อให้ได้ข้อมูลปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ส่งผลต่อสุขภาพของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพร

2.3 ระเบียบวิธีการวิจัย

เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ การวิจัยจะถูกแบ่งเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เตรียมสารสกัดพืชผักสมุนไพรไทย ด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous หรือ successive extraction) โดยใช้ Soxhlet extractor เพื่อให้ได้สารองค์ประกอบสำคัญภายในพืชผักสมุนไพร

ขั้นตอนที่ 2 ประเมินความสามารถในการดูดกลืนรังสีอัตราไวโอเลตเอ และบี

ขั้นตอนที่ 3 การประเมินค่า SPF (Sun Protection Factor) คณะผู้วิจัยได้ส่งสารสกัดสมุนไพรไปวิเคราะห์หาค่า SPF ที่บริษัท เอสแอนด์เจ อินเตอร์เนชั่นแนล เอนเตอร์ไพรส์ จำกัด (มหาชน)

ขั้นตอนที่ 4 ประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยต่อเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยง (HaCaT) โดยวิธี MTT assayเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ไม่แสดงความเป็นพิษ และเหมาะสมสำหรับทำการวิจัยกับเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยง (HaCaT)

ขั้นตอนที่ 5 วัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยชนิดต่าง ๆ โดยใช้เทคนิค Folin Ciocalteu Phenol assay (FCP)และ Total flavonoid of determinationและวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้เทคนิค DPPH radical scavenging assayและ ABTS free radical decolorization assay

2.4 ผลการวิจัย

คณะผู้วิจัยได้รวบรวมพืชผักสมุนไพรจำนวน 15 ชนิด ที่นิยมบริโภค จากตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ผลจากการสกัดพืชผักสมุนไพรพบว่าปริมาณสารสกัดหยาบของพืชผักสมุนไพรที่ได้มีปริมาณตั้งแต่ 0.04 - 3.28 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของพืชผักสมุนไพรสด และพบว่าตัวทำละลายเอทานอลสามารถสกัดสารสำคัญออกจากพืชผักสมุนไพรได้มากกว่าตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ และไดคลอโรมีเทน ส่วนสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยที่สามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตเอได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากขมิ้นชันจากตัวทำละลายเอทานอล และสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยที่สามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตบีได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากขิงจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรมีอยู่ในช่วงระหว่าง 85.66 ± 2.75 ถึง 3.23 ± 0.09 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่างสด 1 กรัม และ1092.71 ± 117.49 ถึง 0.75 ± 0.38 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิตินต่อน้ำหนักสด 1 กรัม ตามลำดับ โดยสารสกัดของขมิ้นชันจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดของขมิ้นชันจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด สำหรับการประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรต่อเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยง พบว่าสารสกัดพืชผักสมุนไพรไทยที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยงโดยทำให้ร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีดังนี้ สารสกัดแตงกวา มะกรูด มะเขือพวง และโหระพาจากตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ และสารสกัดมะเขือเปราะจากตัวทำละลายเอทานอล

2.5 การนำไปใช้ประโยชน์

1. สร้างองค์ความรู้ใหม่ และนำไปสู่การตีพิมพ์

ผลงานวิจัยจะนำไปสู่การตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติที่มีค่า Impact factor และนำไปสู่การวิจัยต่อยอด เพื่อพัฒนาแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยอย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นต่อไป ทั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ตีพิมพ์ผลงานนี้แล้ว

Thongrakard V, Ruangrungsi N, Ekkapongpisit M, Isidoro C, Tencomnao T.Protection from UVB Toxicity in Human Keratinocytes by Thailand Native Herbs Extracts. Photochemistry and Photobiology. 2014; 90: 214-224.

2. นำไปสู่การใช้ประโยชน์แก่ภาคประชาชน / ชุมชน / ธุรกิจ

ภาคประชาชน จะมีความรู้ และเข้าใจเกี่ยวกับสรรพคุณของพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ ที่ใช้อยู่ในชีวิตประจำวันเพิ่มมากขึ้น

ภาคชุมชน จะเห็นคุณค่าของพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น และปลูกพืชผักสมุนไพรไทยเหล่านี้เพื่อนำมาจำหน่าย ซึ่งเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับชุมชน

ภาคธุรกิจ จะได้รับความรู้เกี่ยวกับสรรพคุณของพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ มากขึ้น และเล็งเห็นถึงความสำคัญของพืชผักสมุนไพรไทยเหล่านี้เพิ่มขึ้น นำไปสู่การเพิ่มการผลิต และการเพิ่มการส่งออกพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ ซึ่งเป็นการเพิ่มรายได้ให้ประเทศมากยิ่งขึ้น

3. นำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต และใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์

การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตจะทำได้โดยการสังเคราะห์สารดังกล่าวในห้องปฏิบัติการ และ/หรือการเร่งผลิตพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ นอกจากนี้พืชผักสมุนไพรไทยเหล่านี้จะถูกนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์เพื่อเป็นยารักษาต่อไป รวมทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชผักสมุนไพรไทย ซึ่งมุ่งเน้นไปที่หน่วยงานด้านเภสัชกรรม ที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนา และผลิตยา หรือครีมกันแดดจากพืชผักสมุนไพรไทย เช่น องค์การเภสัชกรรม และบริษัทเอกชนผู้ผลิตยา เป็นต้น

2.6 ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรบางชนิดที่คณะผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกมาอาจมีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ผิวหนังจากการทำลายโดยรังสีอัตราไวโอเลต โดยเฉพาะสารสกัดของพืชผักสมุนไพรในกลุ่มที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง และมีความสามารถในการดูดกลืนรังสีอัตราไวโอเลตสูง อย่างไรก็ตามในอนาคตควรมีการศึกษาถึงระดับกลไกของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรต่อการปกป้องเซลล์ผิวหนังจากการทำลายโดยรังสีอัตราไวโอเลต เพื่อให้ทราบกลไกการออกฤทธิ์ของพืชผักสมุนไพรเหล่านี้ที่แน่ชัด และอาจนำไปสู่การเพิ่มมูลค่าของพืชผักสมุนไพรของไทยได้อีกทางหนึ่ง ผลงานวิจัยในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ควรมีการศึกษาในประเด็นต่างๆ ในอนาคต ดังต่อไปนี้

1. ศึกษากลไกการป้องกัน เช่น ปัจจัยหรือสาเหตุที่ส่งผลให้สมุนไพรสามารถต้านอนุมูลอิสระ จากการเหนี่ยวนำของรังสีอัตราไวโอเลต เป็นต้น
2. แสวงหาแนวทางเพื่อต่อยอดเชิงพาณิชย์ โดยต้องศึกษาสองขั้นตอน ซึ่งประกอบด้วย การศึกษาทดลองในผิวของสัตว์ เพื่อยืนยันฤทธิ์ และความปลอดภัย และการศึกษาโดยทดสอบกับมนุษย์
3. การศึกษาอื่นๆ เพื่อต่อยอดเชิงพาณิชย์ โดยร่วมกับภาคอุตสาหกรรมในการนำสารสกัดที่มีการรายงานค่า SPF ได้แก่ขมิ้นชัน และขิง เพื่อการพัฒนาเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางค์ประเภทผลิตภัณฑ์กันแดด

บทคัดย่อ

รังสีอัตราไวโอเลตมีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคมะเร็งผิวหนัง สารที่มีฤทธิ์ในการปกป้องการทำลายเซลล์ผิวหนังจากรังสีอัตราไวโอเลตจึงได้รับความสนใจมากขึ้น จุดประสงค์ของการวิจัยคือประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และสามารถในการดูดกลืนรังสีอัตราไวโอเลต และรวมถึงประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ โดยพืชผักสมุนไพรไทย 15 ชนิด จะถูกสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ตามลำดับ สารสกัดของขมิ้น จากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด (85.66 ± 2.75 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่างสด 1 กรัม และ1092.71 ± 117.49 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิตินต่อน้ำหนักสด 1 กรัม ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดของขมิ้น จากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยเทคนิค DPPH assay มีค่า IC_{50} เท่ากับ 141.78 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และโดยเทคนิค ABTS assay มีค่า IC_{50} เท่ากับ 88.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยที่สามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตเอ (315 -400 nm) และบี (280 – 315 nm) ได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากขมิ้น จากตัวทำละลายเอทานอล สารสกัดจากขิง จากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ จากนั้นคณะผู้วิจัยได้ประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ที่ถูกเพาะเลี้ยง โดยเทคนิค MTT assay พบว่า สารสกัดแตงกวา มะกรูด มะเขือพวง และโหระพา จากตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ และสารสกัดมะเขือเปราะ จากตัวทำละลายเอทานอล ทำให้ร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยบางชนิดอาจมีความสามารถในการปกป้องเซลล์ผิวหนังจากการทำลายของรังสีอัตราไวโอเลตได้

คำสำคัญ สมุนไพรไทย เซลล์ผิวหนังเคอราติโนไซต์ รังสีอัตราไวโอเลตบี

Abstract

Ultraviolet (UV) radiation plays a role in skin cancer development. Chemopreventive agents, such as herbal polyphenols, to protect skin from photo damage have been great interest. The aim of the present study was to investigate the antioxidative activities and UV absorbs properties and cytotoxicity on human keratinocyte cells of traditional Thai medicinal. Fifteen species of Thai plants were exhaustively extracted by petroleum ether, dichloromethane and ethanol respectively. The highest content of phenolic content and flavonoid content were dichloromethane fraction of *Curcuma longa* (85.66±2.75 mg gallic acid equivalents (GAE)/g fresh weigh (FW) and 1092.71±117.49 mg quercetin equivalents (QE)/g FW respectively). The highest antioxidative capacity was also dichloromethane fraction of *C. longa* with IC_{50} of 141.78 µg/ml by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) assay and with IC_{50} of 88.05 µg/ml by ABTS 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) assay. The maximum UVA (315-400 nm) and UVB (280-315 nm) absorption were ethanolic fraction of *C. longa* and dichloromethane fraction of *Zingiber officinale* respectively. The cytotoxicity of Thai herb extracts on cultured human keratinocyte cells were determine using 3-(4-5 dimethylthiozol-2-yl) 2-5 diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay, we found that petroleum ether fraction of *Cucumis sativus, Citrus hystrix, Solanum torvum* and *Ocimum basilicum* and ethanolic fraction of *Solanum aculeatissimum* significantly inhibited cell viability. This data indicate that some of Thai plants may be powerful for protect the skin form photo damage.

Keywords Thai medicinal herbal, human keratinocytes, ultraviolet-B