46401202 : สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คำสำคัญ : Apoptosis / Cytotoxic activity/ Anticancer/ Herbs

เปรมวดี สกุลสม : พืชต้านมะเร็งและกลไกการออกฤทธิ์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ : รศ. ดร. กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์, ผศ.ดร.บุษราภรณ์ งามปัญญา และรศ.ดร. นวลฉวี เวชประสิทธิ์.90หน้า.

การคัดกรองฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากผักชีลาว(*Anethum graveolens* L.) ผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum* L.) ขมิ้นขาว (*Curcuma manggn* Valeton & van Zyp.) ข่า (*Alpinia nigra (Gaerth)* B.L. Burtt) แมงลัก (*Ocimum americanum* L.) และยี่หร่า (*Ocimum gratissimum* L.) ที่สกัดด้วยวิธี sonication ร่วมกับ soxhlet extraction โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันคือ hexane, acetone และ methanol พบว่า methanol สามารถสกัดสารได้เป็นปริมาณมากกว่าตัวทำละลายอื่นๆ แต่สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งต่างๆ HeLa (Human cervical adenocarcinama), KB (Human epidermoid carcinoma), P388 (Murine leukemia) SW620 และ (Human colon adenocarcinoma) จะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดพืชและสารสกัด โดยสารสกัดที่ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งหมดได้คือยี่หร่าและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยอะซิโตน ซึ่งขมิ้นขาวมีแนวโน้มให้สารยับยั้งเซลล์มะเร็งในทุกสารละลายที่ใช้สกัด และอะซิโตนเป็นสารละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารต้านมะเร็งจากพืชได้ดีที่สุด ความเป็นพิษของสารสกัดขมิ้นขาวที่สกัดด้วยอะซีโตนจะมีฤทธิ์อ่อนกว่าความเป็นพิษของสารสกัดยี่หร่า โดยให้ IC_{50} ของสารสกัดขมิ้นขาวต่อเซลล์ HeLa, KB, P388 และ SW620 ที่ 0.41, 0.51, 0.44 และ 0.49 mg/ml ขณะที่สารสกัดยี่หร่าให้ค่า IC_{50} ต่อเซลล์ที่ 0.33, 0.40, 0.26 และ 0.25 mg/ml ตามลำดับ สารสกัดทั้ง 2 ที่ความเข้มข้น IC_{50} เหล่านี้ สามารถยับยั้งการเจริญเป็นโคโลนีของเซลล์มะเร็งได้ โดยสารสกัดจะออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดโคโลนีในแบบผันกลับต่อเซลล์ HeLa และออกฤทธิ์ยับยั้งแบบไม่ผันกลับต่อเซลล์ KB และ SW620 การยืนยันความมีประสิทธิภาพยับยั้งเซลล์มะเร็ง โดยติดตามการเกิด apoptosis ด้วยการตรวจ DNA ladder พบว่าสารสกัดยี่หร่าที่ค่า IC_{50} สามารถทำให้เฉพาะเซลล์ KB ตายแบบ apoptosis โดยเกิดการแตกหักของดีเอนเอเมื่อบ่มกับสารสกัดนาน 72 ชม ในขณะที่สารสกัดจากขมิ้นขาวทำให้เกิดการแตกหักของดีเอนเอได้เมื่อบ่มนาน 96 ชม.และ เมื่อติดตามการตายแบบ apoptosis โดยย้อมเซลล์ด้วย annexin V ร่วมกับ propidium iodide หลังบ่มกับสารสกัด พบว่าสารสกัดจากยี่หร่าทำให้ KB ตายแบบ apoptosis 50 % ในขณะที่ไม่มีผลต่อเซลล์มะเร็งอื่นๆเช่นเดิม นอกจากนี้การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากยี่หร่าและขมิ้นขาวด้วยวิธี Ferric thiocyanate (FTC) เทียบกับวิตามิน E (α - tocopherol) ที่ใช้เป็นตัวควบคุม พบว่าสารสกัดจากยี่หร่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ 82.42 % ในขณะที่ขมิ้นขาวสามารถยับยั้งได้ 67.84 % จากผลการทดลองทั้งหมดแสดงว่าสารสกัดยี่หร่าและขมิ้นขาวที่สกัดได้จากตัวทำละลาย acetone สามารถใช้เป็นสารป้องกันมะเร็งได้ แต่คุณสมบัติต้านมะเร็งจากสารสกัดขมิ้นขาวมีแนวโน้มดีกว่าเนื่องจากไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ และมีการยับยั้งแบบผันกลับได้ หากได้รับต่อเนื่องนาน 96 ชม.ก็จะทำให้เซลล์มะเร็งตายแบบ apoptosis อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาต้านมะเร็งได้ จะต้องมีการวิจัยศึกษาในรายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการยับยั้งเซลล์มะเร็งต่อไป

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2549
ลายมือชื่อนักศึกษา----------
ลายมือชื่ออาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ 1. ..... 2. ..... 3. .....

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

46401202 : MAJOR : BIOTECHNOLOGY
KEY WORD : Apoptosis / Cytotoxic activity/ Anticancer/ Herbs
Premwadee Sakunsom : Plants for anticancer and their mechanism. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF KALYANEE JIRASRIPONGPUN., ASST. PROF. BUDSARAPORN NGAMPANYA AND ASSOC. PROF. NUANCHAWEE WETPRASIT 90 pp.

Screening on cytotoxic activity of crude extract from *Anethum graveolens L.*, *Eryngium foetidum L.*, *Curcuma manggn Valeton & van Zyp*, *Alpinia nigra (Gaerth) B.L. Burtt, Ocimum americanum L.* and *Ocimum gratissimum L.*, extracted by sonication following with soxhlet extraction using solvent with different polarity (hexane, acetone and methanol) revealed that the extracts using methanol were more in quantity than those from the use of other two solvents. Cytotoxic activity of the extracts on different cancer cells (HeLa (Human cervical adenocarcinama), KB (Human epidermoid carcinoma), P388 (Murine leukemia) and SW620 (Human colon adenocarcinoma)) were found to depend on herb and the solvent. However, the extracts which inhibited all tested cells were *O gratissimum* and *C. manggn* extracted with acetone. *C. manggn* was found to be a potential herb among all tested herbs for anticancer agent and acetone was the best solvent for extracting the active ingredient from herbs. The cytotoxic activity of the *C. manggn* extract was less than the *O gratissimum* extract for inhibition concentration (IC_{50}) of *C. manggn* extract to cell proliferation at 48 h of HeLa, KB, P388 and SW620 were 0.41, 0.51, 0.44 and 0.49 mg/ml respectively, while the *O gratissimum* extract gave IC_{50} at 0.33, 0.40, 0.26 and 0.25 mg/ml respectively. Both extracts at these inhibition concentrations also inhibited colony formation. They showed reverse cytotoxic effect to HeLa, but irreversible to KB and SW620. Furthermore, tracing on apoptosis cell death activity of the extracts on DNA fragmentation showed that the *O. gratissimum* extract played role only to KB after 72 h exposure while *C. manggn* extract needed longer exposure time of 96 h to cause apoptosis cell death to KB. Determination the apoptosis cell death with annexin V -propidium iodide confirmed similar result that the *O gratissimum* extract played role only to KB and gave apoptosis cells to 50%. Analyzing anti-oxidation activity of both extracts compared with vitamin E (α - tocopherol) showed that anti-oxidation activity of *O gratissimum* extract was at 82.42 while the *C. manggn* extract was at 67.84%. In overall, it can be concluded that (i) the extracts of *O. gratissimum* and *C. manggn* from acetone contained antioxidant molecules which may be good as a cancer preventive agents (ii) the *C. manggn* extract was more suitable as anticancer agent than the extracted of *O gratissimum* according to its intoxicant to normal cells, its reversible toxicity activity and its apoptosis cell death activity under long exposure time. However, developing of the extract to be anticancer drug still need more studies especially on the pathway and mechanism of apoptosis.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Department of Biotechnology Graduate School Silpakorn University Academic Year 2006
Student's signature ----------
Thesis Advisors' signature 1. ..... 2. ..... 3. .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมถึง รองศาสตราจารย์ ดร.นวลฉวี เวชประสิทธิ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษราภรณ์ งามปัญญา อาจารย์ ดร. วนิดา วัฒนการุณ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มยุวา อารีกิจเสรี ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ คุณฑิพาภรณ์ ทรัพย์สมบูรณ์ เป็นอย่างสูงที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้และจัดซื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัยรวมทั้งกำลังใจและมิตรภาพที่ดียิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณย่า พี่สาวสำหรับโอกาสที่ดีและกำลังใจอันอบอุ่น

ขอขอบคุณรุ่นพี่และเพื่อนนักศึกษาปริญญาโท สำหรับกำลังใจ คำแนะนำและความช่วยเหลือในหลายๆด้านจนการทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์