

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
คำย่อ.....	ฏ

บทที่

1 บทนำ

ปัญหาและที่มาของงานวิจัย.....	1
-------------------------------	---

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
-------------------------------	---

ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
------------------------	---

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
--------------------------------	---

2 ตรวจเอกสาร.....3

พืชต้านมะเร็ง.....	3
--------------------	---

สารต้านมะเร็งจากพืชวงศ์ Bupleurum.....	11
--	----

สารต้านมะเร็งจากพืชวงศ์ Zingiberaceae.....	14
--	----

สารต้านมะเร็งจากพืชวงศ์ Labiatae	17
--	----

การสกัดสารจากพืช.....	19
-----------------------	----

การศึกษาหาสารต้านมะเร็ง.....	20
------------------------------	----

การตายแบบ apoptosis.....	21
--------------------------	----

3 อุปกรณ์และวิธีวิจัย..... 30

วัสดุและอุปกรณ์เครื่องแก้ว.....	31
---------------------------------	----

สารเคมี.....	32
--------------	----

เซลล์ที่ใช้ในการทดลอง.....	33
----------------------------	----

พืชที่ใช้ในการทดลอง.....	38
อาหารเลี้ยงเซลล์.....	44
ระเบียบวิธีวิจัยวิจัย.....	44
การสกัดสารจากพืชด้วยวิธี Sonication ร่วมกับ Soxhlet extraction.....	44
วิธีเตรียมสารสกัดในการทดสอบ.....	45
การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัด.....	45
การทดสอบหาค่า IC_{50} ของสารสกัดที่มีต่อเซลล์มะเร็งต่างๆ.....	45
การทดสอบความสามารถในการสร้างโคโลนีของเซลล์	
ที่ความเข้มข้น IC_{50} ของสารสกัด.....	46
การตรวจหาการตายของเซลล์แบบ apoptosis.....	46
การวัดคุณสมบัติ antioxidant ด้วยวิธี Ferric Thiocyanate (FTC).....	47
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	48
ปริมาณสารที่สกัดได้ด้วยวิธี Sonication ร่วมกับ Soxhlet extraction	
โดยใช้ตัวทำละลาย hexane, acetone และ methanol	48
ลักษณะสารสกัดที่ได้.....	50
ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัด.....	52
ผลการทดสอบหาค่าการยับยั้งของสารสกัดต่อเซลล์มะเร็งต่างๆ.....	58
ผลการทดสอบการเกิด colony formation assay.....	66
ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด	
ที่ความเข้มข้น IC_{50} ต่อเซลล์ปกติ.....	67
ผลของสารสกัดต่อการเกิด apoptosis ของเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิด.....	68
ผลการวัดคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Thiocyanate....	79
5 สรุปผลการทดลอง.....	80
เอกสารอ้างอิง.....	82
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเซลล์และสารเคมีที่ใช้ในงานเลี้ยงเซลล์.....	87
ภาคผนวก ข การนับจำนวนเซลล์ด้วย hemocytometer.....	88

ภาคผนวก ค การเตรียม Taxol ความเข้มข้น 100 nM.....	89
ประวัติผู้วิจัย.....	90

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 สารสกัดจากพืชที่ใช้บริโภคชนิดต่างๆที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง.....	4
1.2 สารสำคัญในพืชบริโภคที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ Nuclear factor-kappa B (NK – kB).....	8
1.3 พืชและสารสกัดจาก methanol ที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดเนื้องอก.....	10
1.4 ค่า IC ₅₀ ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชในวงศ์ Labiatae.....	17
4.1 ลักษณะของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆ.....	50
4.2 เพอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ HeLa หลังบ่มเลี้ยงร่วมกับสารสกัด ชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 1mg/ml นาน 48 ชั่วโมง.....	53
4.3 เพอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ KB หลังบ่มเลี้ยงร่วมกับสารสกัด ชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 1mg/ml นาน 48 ชั่วโมง.....	54
4.4 เพอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ P388 หลังบ่มเลี้ยงร่วมกับสารสกัด ชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 1mg/ml นาน 48 ชั่วโมง.....	55
4.5 เพอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ SW620 หลังบ่มเลี้ยงร่วมกับสารสกัด ชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 1mg/ml นาน 48 ชั่วโมง.....	56
4.6 สารสกัดจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ ความมีชีวิตเป็นศูนย์เมื่อเทียบกับเซลล์ในสภาวะ ควบคุมที่ปราศจากสารทดสอบ.....	57
4.7 ค่า IC ₅₀ (mg/ml) ของสารสกัดจากขมิ้นขาวและใบยี่ห่วย ต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ.....	65
4.8 เพอร์เซ็นต์การเกิดโคโลนีของเซลล์เมื่อบ่มเลี้ยงร่วมกับ สารสกัดขมิ้นขาวและยี่ห่วยที่ความเข้มข้น IC ₅₀ เทียบกับการบ่มเลี้ยงในอาหารปกติ นาน 14 วัน.....	66

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างพืชที่มีรายงานของสารต้านมะเร็ง.....	5
2.2 โครงสร้างของสารสกัดจากพืชที่บริโภคได้ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง.....	6
2.3 โครงสร้างสาร Saikosaponin D.....	11
2.4 โครงสร้างสาร Chalcones และ Flavanon.....	12
2.5 โครงสร้างสาร Myristcin.....	14
2.6 โครงสร้างทางเคมีของ 6 – Gingerol และ 6 – Paradol.....	16
2.7 การเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของ tetrazole เป็น formazan.....	21
2.8 ลักษณะเซลล์ที่ตายแบบ Apoptosis และ Necrosis.....	22
2.9 การกระตุ้น Apoptosis ผ่านทาง Ligand – Receptor.....	23
2.10 Apoptosis ที่เกิดผ่าน mitochondria pathway.....	24
2.11 การกระตุ้น caspase ด้วย apoptosome.....	24
2.12 caspase – dependent และ caspase – independent pathway.....	25
2.13 กลไกโดยรวมของ apoptosis pathway.....	26
2.14 การเกิด membrane alteration ในการตายแบบ apoptosis.....	27
2.15 ลักษณะ DNA ladder ในการตายแบบ apoptosis.....	28
3.1 HeLa (Human cervical adenocarcinoma).....	33
3.2 KB (Human epidermoid carcinoma).....	34
3.3 P388 (Murine leukemia).....	35
3.6 SW620 (Human colon adenocarcinoma).....	36
3.5 Vero (African green monkey fibroblast).....	37
3.6 ผักชีลาว.....	38
3.7 ผักชีฝรั่ง.....	39
3.8 ขมิ้นขาว.....	40
3.9 ข่า.....	41
3.10 ใบยี่หระ.....	42

รูปที่	หน้า
3.11 ไบแมงลัก.....	43
3.12 ส่วนประกอบของ Soxhlet extraction apparatus.....	44
4.1 ปริมาณสารสกัดที่ได้จากผักชีลาว ผักชีฝรั่ง แมงลัก ขมิ้นขาว ข่าและยี่หระที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ.....	48
4.2 สารประกอบของพืชที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ.....	49
4.3 เพอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ HeLa หลังบ่มร่วมกับสารสกัดขมิ้นขาวและยี่หระที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1mg/ml.....	58
4.4 ลักษณะและรูปร่างของเซลล์ HeLa เมื่อบ่มเลี้ยงกับ สารสกัดที่ทดสอบนาน 48 ชั่วโมง	59
4.5 เพอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ KB หลังบ่มร่วมกับสารสกัดขมิ้นขาวและยี่หระที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml.....	60
4.6 เพอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ P388 หลังบ่มร่วมกับสารสกัดขมิ้นขาวและยี่หระที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml.....	61
4.7 เพอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ SW620 หลังบ่มร่วมกับสารสกัดขมิ้นขาวและยี่หระที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml.....	62
4.8 ลักษณะและรูปร่างของเซลล์ SW620 เมื่อบ่มเลี้ยง กับสารสกัดที่ทดสอบนาน 48 ชั่วโมง.....	63
4.9 ลักษณะ ghost cell ของเซลล์ KB เมื่อบ่มเลี้ยงกับยา Taxol 100 nm นาน 48 ชั่วโมง.....	64
4.10 ขั้นตอนการเกิด membrane blebbing	64
4.11 ความมีชีวิตของเซลล์ Vero เมื่อทดสอบกับสารสกัดขมิ้นขาว และยี่หระที่ความเข้มข้น IC_{50} ของเซลล์มะเร็งแต่ละชนิด.....	67
4.12 ผลการตรวจหา DNA fragment ของเซลล์ HeLa.....	69

รูปที่	หน้า
4.13 ผลการตรวจหา DNA fragment ของเซลล์ KB.....	70
4.14 ผลการตรวจหา DNA fragment ของเซลล์ P388.....	71
4.15 ผลการตรวจหา DNA fragment ของเซลล์ SW620.....	72
4.16 ผลการตรวจหา DNA fragment ของเซลล์ KB เมื่อเพิ่มระยะเวลาการบ่มกับสารสกัดนาน 72 ชั่วโมง.....	73
4.17 ผลการตรวจหา DNA fragment ของเซลล์ KB เมื่อเพิ่มระยะเวลาการบ่มกับสารสกัดนาน 96 ชั่วโมง	74
4.18 ลักษณะของเซลล์ที่ย้อมด้วย annexin V และ propidium iodide.....	75
4.19 ลักษณะการตายของเซลล์ HeLa หลังบ่มกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น IC_{50} นาน 48 ชั่วโมง.....	76
4.20 ลักษณะการตายของเซลล์ KB หลังบ่มกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น IC_{50} นาน 48 ชั่วโมง.....	76
4.21 ลักษณะการตายของเซลล์ P388 หลังบ่มกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น IC_{50} นาน 48 ชั่วโมง.....	77
4.22 ลักษณะการตายของเซลล์ SW620 หลังบ่มกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น IC_{50} นาน 48 ชั่วโมง.....	77
4.23 ลักษณะการตายของเซลล์ KB หลังบ่มกับสารสกัดยี่หว่าความเข้มข้น IC_{50} นาน 72 ชั่วโมง.....	78
4.24 ลักษณะการตายของเซลล์ KB หลังบ่มกับสารสกัดขมิ้นขาวความเข้มข้น IC_{50} นาน 96 ชั่วโมง.....	78
4.25 ค่าการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ของสารสกัดขมิ้นขาวและยี่หว่ากับตัวควบคุม.....	79

สัญลักษณ์

bp	base pair
°C	องศาเซลเซียส
CO ₂	คาร์บอนไดออกไซด์
DNA	deoxyribonucleic acid
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
FCS	fetal calf serum
g	กรัม
M	โมลาร์
mg	มิลลิกรัม
ml	มิลลิลิตร
MW	molecular weight
nM	นาโนโมล
NF-kB	Nuclear factor kappa B
PBS	phosphate buffer saline
SDS	sodium dodecyl sulfate
µg	ไมโครกรัม
µl	ไมโครลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร ส่วนวนลิขสิทธิ์