

## บทนำ

ในปัจจุบันนี้สถิติของอัตราการเกิดมะเร็งและการตายจากโรคมะเร็งของคนทั่วโลกมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ อัตราผู้ป่วยและการตายจากโรคมะเร็งเฉลี่ยทั่วประเทศไทยตามรายงานประจำปีจากกระทรวงสาธารณสุข สถาบันมะเร็งแห่งชาติ และจากโรงพยาบาลต่างๆ พบว่ามีเพิ่มมากขึ้น จนกลายเป็นภาระในการควบคุมป้องกันและการรักษาให้แก่แพทย์ พยาบาล และเจ้าหน้าที่ทางสาธารณสุข แม้ว่ากระทรวงสาธารณสุขเองจะได้มีการขยายงานการควบคุมป้องกันและรักษาโรคมะเร็ง โดยการเพิ่มสถาบันหรือโรงพยาบาลที่รองรับรักษาผู้ป่วยมะเร็งโดยเฉพาะก็ตาม โรคมะเร็งนั้นก่อให้เกิดการสิ้นเปลืองทรัพยากรและการกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมของประเทศปีละไม่ต่ำกว่าพันล้านบาท

มะเร็งตับเป็นโรคที่มีความสำคัญพบได้บ่อยในประชากรโลก จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก รายงานพบว่าพบมากเป็นอันดับ 5 คิดเป็นร้อยละ 5.6 ของมะเร็งทั้งหมด โดยพบในเพศชายมากกว่าหญิง 2-4 เท่า ในปี พ.ศ. 2543 พบอุบัติการณ์ของผู้ป่วยมะเร็งตับใหม่ทั่วโลกประมาณ 564,000 คนต่อปี ผู้ป่วยส่วนใหญ่ประมาณ 271,500 คนอยู่ในทวีปเอเชีย (จากประเทศจีน 221,000 คน และญี่ปุ่น 33,000 คน) สำหรับในอเมริกาและประเทศในทวีปยุโรปพบประมาณ 11,500 คนและ 50,000 คนตามลำดับและมีผู้ป่วยเสียชีวิตจากมะเร็งตับทั่วโลกสูงถึง 549,000 คน จากการรายงานของกระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทยปี พ.ศ. 2542 พบว่าโรคมะเร็งตับเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตและเจ็บป่วยเรื้อรังจากสาเหตุการตายก่อนวัยอันควรเป็นอันดับที่ 4 และเป็นมะเร็งที่พบบ่อยอันดับ 1 ในเพศชายและอันดับ 3 ในเพศหญิงรองจากมะเร็งเต้านมและมะเร็งปากมดลูกโรคมะเร็งเป็นโรคระบาดเรื้อรังที่ไม่มีการติดต่อระหว่างผู้ป่วยไปยังคนปกติ เป็นโรคที่เกิดเฉพาะบุคคล เพราะว่าเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมในการบริโภค นิสัยส่วนตัว กรรมพันธุ์ การมีอาชีพ และการอยู่อาศัยในสิ่งแวดล้อมที่มีมลภาวะ การเกิดโรคมะเร็งส่วนใหญ่ยอมรับว่าเกิดจากสารเคมีในอาหารและสิ่งแวดล้อมมากกว่าอิทธิพลของพันธุกรรม

ปัจจัยเสี่ยงสำคัญต่อการเกิดโรคมะเร็งตับได้แก่โรคตับแข็งจากทุกๆสาเหตุจากการดื่มสุรา และที่เป็นปัญหาสำคัญทั่วโลกคือจากไวรัสตับอักเสบบีและซี จากการสำรวจพบว่าประเทศไทย มีประชากรดื่มสุราหรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากเป็นอันดับ 5 ของโลก นอกจากนี้ปัญหาไวรัสตับอักเสบบีเป็นปัญหาสำคัญ พบว่ามีคนไทยเป็นพาหะนำโรคนี้นี้กว่า 6 ล้านคนและมากกว่าครึ่งของเด็กแรกเกิดที่ติดเชื้อจากแม่กลายเป็นพาหะหรือติดเชื้อตับอักเสบริ่ง ทำให้เสียชีวิตจากมะเร็งตับก่อนอายุขัยและนับวันปัญหามะเร็งตับนั้นทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นปัจจัยการเกิดมะเร็งตับนั้นมีหลายปัจจัยต่างๆดังที่กล่าวข้างต้นเช่น การเกิดภาวะตับแข็งจากการดื่มสุรา การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี สารพิษอะฟลาทอกซิน สารเคมีต่างๆจากการทำงานและสิ่งแวดล้อมที่ก่อให้เกิดมะเร็ง เนื่องจากตับเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่กำจัดสารพิษให้มีสมบัติในการละลายน้ำเพื่อถ่ายต่อการกำจัดดังนั้นจึงก่อให้เกิดผลข้างเคียงคือมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งได้

โดยทั่วไปโรคมะเร็งไม่สามารถรักษาให้หายได้แต่สามารถป้องกันได้โดยหลีกเลี่ยงการได้รับสัมผัสสารก่อมะเร็งซึ่งเป็นปัจจัยหลักของความเสี่ยงต่อการเกิดโรคแต่ในความเป็นจริงมนุษย์ไม่สามารถหลีกเลี่ยงการสัมผัสสารก่อมะเร็งได้เนื่องจากสารเหล่านี้เจือปนอยู่กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมประกอบกับภาวะความเป็นพิษของสิ่งแวดล้อมเพิ่มมากขึ้นยิ่งทำให้ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคเพิ่มมากขึ้นเป็นทวีคูณดังนั้นการขับสารก่อมะเร็ง สารพิษต่างๆไม่ให้สะสมอยู่ในร่างกายของมนุษย์จึงเป็นอีกหนทางหนึ่งในการป้องกันและลดความเสี่ยงไม่ให้เกิดโรคมะเร็งได้

สารสำคัญในพืช (phytochemistry) เช่น เคอร์คูมิน สารประกอบฟีนอลิก แทนนิน แอนโทไซยานิน มีการรายงานว่าสามารถป้องกันมะเร็งชนิดต่างๆได้และนอกจากนี้พบว่าการปรับเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ที่มาจากธรรมชาตินั้นสามารถทำให้สมบัติ ความแรงในการการออกฤทธิ์ ของสารที่ถูกปรับเปลี่ยนมีสมบัติดีกว่าโครงสร้างเดิม

กรดกาเฟอิกเป็นสารสำคัญพวกฟีนอลิกที่พบในพืชเกือบทุกชนิดมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุพันธ์ของกรดกาเฟอิกเช่น กรดกาเฟอิกเพนเอทิลเอสเทอร์ มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ต้านเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย อนุพันธ์กรดกาเฟอิกในกลุ่มเอไมด์มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารตั้งต้นและมีการนำมาใช้เป็น

ส่วนประกอบของเครื่องสำอางจากคุณสมบัติของกรดกาเฟอิกดังกล่าวจึงน่าสนใจนำมาวิจัยต่อยอดเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการวิจัย

กรดกาเฟอิกและอนุพันธ์มีศักยภาพในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน(antioxidant) โดยผ่านหลายกลไกเช่นการขจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenging) ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระ และการเกิดลิปิด เปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) และการเกิดลิปิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxide formation) ดังนั้นจึงมีการนำคุณสมบัติต่างๆของกรดกาเฟอิกนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ด้านการทำลายเนื้อเยื่อในร่างกายนอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติที่สัมพันธ์กับกระบวนการเกิดโรคหลายๆโรคเช่นมะเร็ง เบาหวาน หัวใจ อัลไซเมอร์และพาร์คินสัน

Gulcin ( Gulcin; 2006) ได้ทดสอบสมบัติของกรดกาเฟอิกในการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองเช่น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS, DPPH ทา total antioxidant โดยวิธี ferric thiocyanate วัด total reductive capacity โดยใช้ potassium fericyanide reducing method การกำจัด superoxide anion และคุณสมบัติการเป็น metal chelating โดยใช้  $\alpha$ -tocopherol, trolox, BHA,BHT เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ จากการทดลองพบว่ากรดกาเฟอิกที่ความเข้มข้น 10 และ 30 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรนั้นสามารถลดการเกิดลิปิด เปอร์ออกซิเดชันได้ ร้อยละ68.2และร้อยละ75.8 ตามลำดับนอกจากนี้ยังมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS<sup>+</sup>, DPPH<sup>•</sup> กำจัด superoxide anion มี reducing power และมี metal chelating

Lafay และคณะ(Lafay et al; 2005) ได้ศึกษาผลของกรดกาเฟอิกต่อสภาวะเครียดและระดับของคลอเรสเตอรอล ในเลือดโดยมีการให้เหล็กเกินขนาดในหนูขาวเพศผู้พันธุ์ Wistar rat ในขนาด 50 mg/kg หรือ 2g/kg แล้วให้กรดกาเฟอิกขนาด 6460 mg/kg เป็นเวลา 4 สัปดาห์จากการทดลองพบว่า การให้เหล็กในปริมาณมากนั้นจะก่อให้เกิดภาวะลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในตับหนูซึ่งวัดจากค่า TBARS และมีการเพิ่มของคลอเรสเตอรอลในเลือด เมื่อให้กรดกาเฟอิกแก่หนูพบว่าสามารถป้องกันการเกิดภาวะออกซิเดชันจากการได้รับเหล็กเกินขนาดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยัง

สามารถลดการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้ในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับเหล็กขนาดต่ำๆ ได้นอกจากนี้ยังพบว่าในกลุ่มหนูที่ได้รับกรดกาเฟอิกนั้นสามารถเพิ่มปริมาณของวิตามินอีในพลาสมาได้และยังช่วยลดภาวะการมีคอเรสเตอรอลในเลือดได้อีกด้วย

Nardini (Nardini et al; 1998) ได้ศึกษาผลของกรดกาเฟอิกในการป้องกันภาวะเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ U937 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย t-butylhydroperoxide จากการทดลองพบว่ากรดกาเฟอิกไม่ได้มีความเป็นพิษต่อเซลล์และเมื่อนำมาลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันพบว่าสามารถ ภาวะการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันและลดภาวะการขาดกลูตาไทโอนได้ส่วน Kang และคณะได้ทดลองใช้กรดกาเฟอิกป้องกันการทำลายของเซลล์ lung fibroblast ชนิด WI-38 ซึ่งถูกเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากการทดลองพบว่ากรดกาเฟอิกมีฤทธิ์ในการกำจัด reactive oxygen species ภายในเซลล์กำจัด DPPH และป้องกันการเกิดลิปิด เปอร์ออกซิเดชันได้ กรดกาเฟอิกนั้นช่วยป้องกันอันตรายแก่เซลล์โดยผ่านการกระตุ้น kinase protein นอกจากนี้ยังเพิ่มปริมาณกัมมันตภาพเอนไซม์ (activity) ของเอนไซม์คะตะเลสและเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนที่ควบคุมการทำงานของคะตะเลส

Fiuza และคณะ (Fiuza et al; 2004) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ polyphenolic acid ได้แก่ methyl caffeate propyl caffeate octyl caffeate methyl gallate propyl gallate และ octyl gallate จากนั้นนำมาศึกษาการต้านการแบ่งตัวของเซลล์และความเป็นพิษต่อเซลล์ human cervix adenocarcinoma (HeLa) พบว่าสารสังเคราะห์ทั้งหมดนั้นสามารถต้านการแบ่งตัวของเซลล์ได้ส่วน Son และ Lewis (Son et al; 2002) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของกรดกาเฟอิกในรูปของ เอสเทอร์ และ เอไมด์ แล้วดูความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากการทดลองพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ N-trans-caffeoyl-L-cysteine methyl ester > N-trans-caffeoyldopamine > N-trans-caffeoyltyramine > N-trans-caffeoyl-β-phenethylamine > trolox c > caffeic acid phenethyl ester > caffeic acid > ferulic acid โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระนั้นขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่ ไฮดรอกซิลหรือสารที่ให้อิเล็กทรอนิกส์

Lee และคณะ ( Lee et al; 2005) ได้ทดลองใช้ phenolic acid มาสังเคราะห์อนุพันธ์ จำนวน 14 ชนิดหลังจากนั้นนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ช่องปาก OEC-M1 โดยใช้ MTT และ trypan blue พบว่าสารสังเคราะห์ caffeic acid phenethyl ester (CAPE) มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และไม่มีผลต่อเซลล์ปกติของจากนี้ยังพบว่าสารสังเคราะห์ Phenethyl(E)-3-[3-hydroxy-4-methoxyphenyl]-2-propanoate ได้ยับยั้งระยะ G2/M ของเซลล์มะเร็งช่องปาก และคาดว่าสารดังกล่าวอาจสามารถมีประโยชน์ในการรักษามะเร็งทางช่องปากเนื่องจากไม่มีพิษต่อเซลล์ปกติ ส่วนChen และคณะ(Chen et al; 2001) ได้ทดลองใช้ CAPE ซึ่งเป็นสาระสำคัญที่พบมากในรังผึ้งมาเหนี่ยวนำการตายของเซลล์แบบ apoptosis ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด HL 60 พบว่า CAPE นั้นสามารถเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ CAPE ยังสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแตกหักของดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งและมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์ กระตุ้น cascade -3 หลังจากทดลองแล้ว 4 ชั่วโมง

Ujibe และคณะ ได้สังเคราะห์ octyl caffeate ซึ่งเป็นอนุพันธ์ตัวหนึ่งของกรดกาเฟอิก พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของ humanhistiolytic lymphoma U937 ซึ่งการตอบสนองนั้นขึ้นกับขนาดและเวลาที่ให้สารสังเคราะห์ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis โดยก่อให้เกิดการแตกหักของดีเอ็นเอ และมีการหดตัวของโครมาทิน

Rajan และคณะได้สังเคราะห์และศึกษาอนุพันธ์กลุ่มเอไมด์ของกรดกาเฟอิกในด้านการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยสังเคราะห์กรดกาเฟอิกกับกลุ่มเอมีนพบว่ามีกลุ่มแอนนิไลด์ ของกรดกาเฟอิกนั้นก่อให้เกิดประสิทธิภาพในการการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและยังพบว่าถ้าใช้อะโรมาติกเอมีนมาสังเคราะห์จะมีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่า quercetin

ประเทศไทยนั้นมีความหลากหลายทางชีวภาพและได้เปรียบทางด้านทรัพยากรธรรมชาติ การปรับเปลี่ยนโครงสร้างผลิตภัณฑ์ธรรมชาตินั้นช่วยให้สมุนไพรและสาระสำคัญในพืชมีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น หากมีการศึกษาอย่างจริงจังและนำมาปรับเปลี่ยนโครงสร้างโดยเฉพาะเพื่อให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ กระตุ้นเอนไซม์เฟส 2 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ

และสารพิษต่างๆอันก่อเป็นสาเหตุก่อโรคมะเร็งเพิ่มมากขึ้นอันจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาเป็น ยารักษาโรค สารเสริมสุขภาพ และเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนา ประเทศต่อไป

### วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของกรดกาเฟอิกในรูปอนุพันธ์เอสเทอร์ และเอไมด์
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของ กรดกาเฟอิกและอนุพันธ์
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างต่อการเหนี่ยวนำเอนไซม์เฟส 2 โดยใช้เนื้อเยื่อมะเร็ง ตับชนิด Hep G2

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ความรู้เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของกรดกาเฟอิกและอนุพันธ์เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง การป้องกันโรคมะเร็ง ใช้ทางด้านอุตสาหกรรมยาเพื่อผลิต สารที่มีฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็ง เพื่อให้คนไทยมีสุขภาพที่แข็งแรงห่างไกลจากโรค เพื่อที่จะลด ค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลผู้ป่วยโรคเรื้อรัง
2. นำสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ที่ดี และเหมาะสมไปศึกษาต่อยอดเพื่อนำไปใช้ในเชิงพานิช ร่วมกับบริษัทเอกชนโดยผลิตเป็นสารเสริมสุขภาพ สารขับสารพิษที่มีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ เหนี่ยวนำเอนไซม์ที่ใช้กำจัดสารพิษออกจากร่างกายเพื่อป้องกันมะเร็งอันจะนำรายได้เข้าสู่ประเทศ และเพิ่มความมั่นคงทางเศรษฐกิจของประเทศต่อไป
3. ได้ความรู้ใหม่ๆเกี่ยวกับการนำสารสังเคราะห์มาพัฒนา นำความรู้มาบูรณาการสห สาขาวิชาด้าน เคมี เภสัชวิทยา พืชวิทยา ชีวเคมี เพื่อแก้ไขปัญหาทางด้านสุขภาพของประชาชน และสร้างเครือข่ายวิจัยของมหาวิทยาลัยให้เข้มแข็งเพื่อผลิตผลงานวิจัยที่มีคุณภาพ