

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ในสมุนไพรมีสารสำคัญหลายชนิด สารแต่ละชนิดก็ออกฤทธิ์ได้อย่างกว้างขวางรวมทั้งฤทธิ์ด้านมะเร็งด้วยกลไกที่แตกต่างกัน (Reddy et al., 2003) จากการศึกษาทางระบาดวิทยาแสดงให้เห็นว่าการรับประทานอาหารที่มีผัก ผลไม้ ถั่วและธัญพืชต่างๆ เป็นส่วนประกอบ จะพบอุบัติการณ์ของมะเร็งปอด หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ใหญ่และไส้ตรงและเต้านมน้อยลง อย่างไรก็ตามเมื่อแยกสารสำคัญจากพืชเหล่านี้และนำมาใช้รับประทานเฉพาะสารสำคัญแล้ว พบว่าจะไม่มีผลต่อการป้องกันมะเร็งชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบที่พบในธรรมชาติ อาจเนื่องมาจากการแยกสารสำคัญที่บริสุทธิ์ออกมานั้นอาจจะออกฤทธิ์ในกลไกเดียว เมื่อเปรียบเทียบกับในรูปแบบธรรมชาติที่มีสารสำคัญอยู่หลายชนิด จึงสามารถออกฤทธิ์ได้หลายกลไก ทั้งยังทำงานร่วมกันและอาจจะสามารถเสริมฤทธิ์กันได้ ตัวอย่างสารสำคัญจากพืชที่มีรายงานทางวิทยาศาสตร์ว่ามีคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง ได้แก่ สารกลุ่ม isothiocyanate ที่พบในผักพวงกะหล่ำปลี บร็อคโคลี่ ผักกระเฉด สารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) ที่พบในพืชหลายชนิด เช่น ชาเขียว ขมิ้นชัน ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่มี genistein และ daidzein เป็นส่วนประกอบหลักจะช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งเต้านมและอัตราการตายจากมะเร็งต่อมลูกหมากได้ (Wang HK, 2000; Jolly CA, 2005) ซึ่งการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งส่วนใหญ่แล้วจะทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง ถึงแม้ว่าผลการทดสอบในหลอดทดลองอาจจะไม่ใกล้เคียงกับการทดสอบในร่างกายเสมอไป แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบตาม bioassay guideline ในหลอดทดลองนั้น เป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สูญเสียงบประมาณและใช้สารในการทดสอบปริมาณน้อย จึงทำให้วิธีการดังกล่าวยังคงเป็นวิธีคัดกรองเบื้องต้นที่นิยมใช้จนถึงปัจจุบันนี้

สารสกัดพืชที่นำไปทดสอบหาฤทธิ์เป็นสารต้านมะเร็งส่วนมากจะทำการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง แม้ว่าผลการทดสอบในหลอดทดลองจะไม่ใช่วิธีที่แน่นอนเสมอว่าผลในร่างกายจะเป็นไปเช่นเดียวกันหรือไม่ อย่างไรก็ตามการทำการชีววิเคราะห์ในหลอดทดลองทำได้อย่างรวดเร็ว งบประมาณน้อยกว่าและปริมาณสารสกัดที่ใช้้น้อยกว่า จึงยังคงเป็นวิธีคัดกรองเบื้องต้นที่นิยมใช้กันจนมาถึงปัจจุบัน สารสกัดที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งจึงจะนำไปศึกษาต่อและทำการสกัดแยกส่วนให้ได้สารสำคัญที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของแต่ละส่วนสกัด (fraction) การศึกษาวิจัยสารออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งจากสารธรรมชาติโดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติ สหรัฐอเมริกาได้เริ่มโครงการตั้งแต่ปลายปี ค.ศ.1950 โดยพบว่าพืชกว่า 2,000 สปีชีส์ ถูกนำมาศึกษาโดยการคัดกรองด้วยความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ในทางปฏิบัติได้แยกส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เมล็ด ใบ ราก เป็นต้น ออกจากกัน จนกระทั่งปัจจุบันนี้ได้ศึกษาวิจัยพืชกว่า 30,000 สปีชีส์แล้ว โดยพบว่าประมาณร้อยละ 3 ของสารสกัดที่นำมาทดสอบแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง (colorectal carcinoma) เป็นมะเร็งที่พบบ่อยทั้งเพศชายและเพศหญิง เกิดขึ้นจากเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เปลี่ยนแปลงและเจริญผิดปกติจนไม่สามารถควบคุมได้ สาเหตุการก่อมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าผู้สูงอายุ ผู้ที่มีประวัติครอบครัวเป็นมะเร็ง ผู้ที่มีภาวะลำไส้อักเสบเรื้อรังจะมีความเสี่ยงมากกว่าคนปกติ ผู้ที่รับประทานอาหารที่มีเส้นใยน้อยก็จะมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นจากความรู้พื้นฐานที่ว่ามะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเยื่อเมือกลำไส้ปกติที่มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นเกิดเป็น adenomatous polyp และกลายเป็นเซลล์มะเร็งในระยะเวลาต่อมา (adenoma-carcinoma sequence) โดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากเยื่อเมือกไส้ที่ผิดปกติเกิดเป็นมะเร็งนี้เกิดจากความผิดปกติของยีนมะเร็ง (oncogenes) และยีนกดเนื้องอก (tumor suppressor genes) ชนิดต่างๆ

สมุนไพรในวงศ์รูตาซีอีจำนวน 5 ชนิดที่ได้ทำการคัดเลือกมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และการยับยั้งการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงประกอบด้วย

มะกรูด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hystrix* DC.

ชื่อพ้อง *C. echinata* St.Lag., *C. latipes* Hook.f. & Thoms., *C. papidia* Miq.

มะกรูดเป็นไม้ยืนต้น สูงประมาณ 2-8 เมตร ใบและดอกคล้ายมะนาว ใบรูปค่อนข้างกลม กว้าง 2.5-5 เซนติเมตร ยาว 3-8 เซนติเมตร ก้านใบมีครีบน้ำตขนาดใหญ่เท่าตัวใบ Murakami และคณะ (1995) ได้ทำการแยกสกัดและศึกษาโครงสร้างสารสำคัญจากใบมะกรูด พบสารกลุ่ม glyceroglycolipid 2 ชนิด คือ 1,2-di-O- α -linolenoyl-2-O- β -galactopyranosyl-sn-glycerol และ 1-O- α -linolenoyl-2-O-palmitoyl-3-O- β -galactopyranosyl-sn-glycerol ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้ ยับยั้งการก่อมะเร็งเมื่อทดสอบด้วยเทคนิค tumor promoter-induced Epstein-Barr virus (EBV) activation โดยมีค่า IC_{50} ต่ำกว่าสารป้องกันการก่อมะเร็งอย่าง α -linoleic acid, β -carotene หรือ (-)-epigallocatechin gallate เมื่อทำการศึกษานับต่อไปกับ ICR mouse skin ที่ถูกกระตุ้นด้วย dimethylbenz[α]anthracene (DMBA) และ 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA) สาร 1,2-di-O- α -linolenoyl-2-O- β -galactopyranosyl-sn-glycerol แสดงผลฤทธิ์ด้านการก่อมะเร็ง ในขนาดที่ต่ำกว่า α -linoleic acid 10 เท่า และในปี ค.ศ.1999 นักวิจัยกลุ่มเดียวกันได้ทำการแยกสกัด bergamottin จากผลของมะกรูด และทำการศึกษาการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) จากเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) และ interferon- γ (INF- γ) พบว่า bergamottin สามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์จากเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ได้ที่ $IC_{50} = 14 \mu M$ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน N-(iminoethyl)-L-ornithine (L-NIO) ที่มีค่า $IC_{50} = 7.9 \mu M$ โดยที่ oxypeucedanin และ 5-[(6',7'-dihydroxy-3',7'-

dimethyl-2-octenyl)oxy]psoralen ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับ bergamottin แต่แตกต่างกันเพียง side-chain มีฤทธิ์ดังกล่าวต่ำกว่า bergamottin มาก

ส้มโอ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus maximar* Merr.

ชื่อพ้อง *Aurantium maximum* Burm. Ex Rumph., *C. aurantium* L. var. *grandis* L., *C. decumana* Linn., *C. grandis* (L.) Osbeck,

ส้มโอเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ส่วนที่ยังอ่อนอยู่มีขน กิ่งอ่อนเป็นเหลี่ยม ใบประกอบมีใบย่อยใบเดี่ยว รูปไข่ถึงวงรี ปลายใบแหลมมน โคนใบกลมหรือกึ่งรูปหัวใจ ขอบใบเกือบเรียบถึงหยักมนถี่ขึ้น ผลแบบผลส้ม รูปลูกแพร์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 11-17 เซนติเมตร Lim และคณะ (2009) ได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง U937 human leukemia พบว่าส่วนสกัดเฮกเซน (hexane fraction) จากผลอ่อนส้มโอ แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงสูงสุดที่ $IC_{50} = 60 \mu g/ml$ โดยวิเคราะห์จากการเกิด chromatin condensation, apoptotic body formation และ DNA fragmentation การกระตุ้นการเกิด apoptosis ถูกยืนยันผลด้วยการวิเคราะห์ caspase-3 activity และ immunoblotting using antibodies against Bcl-2, Bax, poly(ADP-ribose) polymerase (PARP), Caspase-9 และ Caspase-3 ทั้งยังรวมถึงการศึกษาผ่านกลไก mitochondria-mediated signaling pathway ที่ศึกษาถึงอัตราส่วนการแสดงออกของยีน Bax/Bcl-2 เมื่อวิเคราะห์ส่วนสกัดเฮกเซน (hexane fraction) ด้วย GC และ GC-MS พบว่าประกอบด้วยสารมากถึง 19 ชนิด ซึ่งรวมถึง γ -sitosterol (17.5%), 7-methoxy-8-(2-oxo-3-methylbutyl) coumarin (6.8%), stigmasterol (3.8%) และ campesterol (3.4%) นอกจากนั้นยังมีการวิจัยที่สามารถแยกสารกลุ่มอัลคาลอยด์และคูมารินจากเปลือกกราก (root bark) ของส้มโอ โดยพบ buntanine ซึ่งเป็น prenylated acridone alkaloid และ citubuntin ซึ่งเป็นสารกลุ่มคูมาริน โดยที่สารทั้งสองตัวเป็นสารชนิดใหม่ที่มีรายงาน (Wu et al., 1988)

มะขวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zanthoxylum rhetsa*

มะขวงเป็นไม้ยืนต้น มีหนามแหลมตามลำต้นและกิ่งใบประกอบแบบขนนก ปลายคี่หรือคู่ เรียงสลับ ใบย่อย 5-8 คู่ ใบย่อยรูปไข่หรือรูปรี ปลายแหลมมาก โคนแหลมและเรียว ขอบใบเรียบหรือหยักห่างๆ ช่อดอกเป็นแบบช่อแยกแขนง ขนาดใหญ่ ออกที่ยอดหรือตามง่ามใบใกล้ยอด ดอกเล็ก ดอกเพศผู้มีกลีบเลี้ยงเล็กมาก 4 กลีบ รูปกลมหรือรูปสามเหลี่ยม กลีบดอก 4 กลีบ สีนวลหรือขาวอมเขียว ดอกเพศเมียคล้ายเพศผู้ ผลค่อนข้างกลม ผิวขรุขระ มีกลิ่น เมล็ดเล็ก กลม ดำเป็นมัน Ahsan และคณะ (2000) ได้ศึกษาสารสำคัญจากสสารสกัด petroleum ether จากเปลือกกราก

(stem bark) ของต้นมะขัง พบสาร 3,5-dimethyl-4-geranyloxycinnamyl alcohol และ 8-methoxy-N-methylflindersine และพบว่าสารสกัด petroleum ether และ 8-methoxy-N-methylflindersine มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง brine shrimp nauplii นอกจากนั้น Ahmad และคณะ (2003) ได้ศึกษาสารสำคัญจากใบมะขัง พบว่าประกอบด้วยสาร pseudophrynamine, lunacridine ซึ่งเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ และพบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ตัวใหม่ 1 ตัวคือ 2-(2'-4',6'-trimehtyl-heptenyl)-4-quinolone นอกจากนั้น Rahman และคณะ (2005) ได้ศึกษาสารสำคัญจากเปลือกกราก (stem bark) ของต้นมะขัง พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ชนิดใหม่ ได้แก่ N-methylflindersine, Zanthobungeanine, γ -fagarine และ canthine-6-one แต่ก็ยังพบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ที่เคยมีรายงานมาก่อนแล้ว ได้แก่ dictamine, rutaecarpine, (+)-evodiamine และ skimiamine

มะแขว่น

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zanthoxylum limonella* Alston.

มะแขว่นเป็นไม้ยืนต้นสูง 5-10 เมตร มีหนามตามลำต้นและกิ่งก้าน ใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับ มีใบย่อย 6-8 คู่ ใบมีลักษณะยาวรีหรือขอบขนาน ปลายใบเรียวแหลม ดอกออกเป็นช่อ และก้านดอกยาว ดอกมีขนาดเล็กสีขาวอมเขียว ผลมีลักษณะแห้งกลม ผิวขรุขระสีน้ำตาล เมื่อแก่ผลจะแตกจนเห็นเมล็ดสีดำกลม จากการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อมะเร็งพบว่า สารสกัดเมทานอลจากผลของมะแขว่นยับยั้งการทำงานของ Epstein-Barr virus ใน Raji cells ที่ถูกกระตุ้นด้วย 12-O-hexadecanoylphorbol-13-acetate (Murakami *et al.*, 1995)

หัสคุณ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Micromelum minutum*

หัสคุณเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูงได้ถึง 10 เมตร มีกลิ่นเฉพาะตัว ใบประกอบแบบขนนก ใบย่อย 7-15 ใบ รูปไข่ กว้าง 2-4 เซนติเมตร ยาว 3-7 เซนติเมตร ใบเรียงสลับ ผิวใบมีขน ดอกช่อ แยกแขนงออกที่ปลายกิ่ง ดอกย่อยจำนวนมาก กลีบดอกสีขาวอ่อนหรือขาวแกมเหลือง ผลสดรูปกระสวยหรือรูปไข่ เมื่อสุกมีสีแดง สารสกัด petroleum ether และ chloroform จากเปลือกไม้ของต้นหัสคุณแสดงมีความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic activity) T-lymphoblastic leukemia เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างสารสำคัญแล้วพบว่าเป็นสารกลุ่มคูมาริน (Susidarti *et al.*, 2009) mahanine เป็นสารกลุ่ม carbazole alkaloid ที่แยกได้จากใบของหัสคุณ แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์และกระตุ้นการตายของเซลล์มะเร็ง U937 โดยกระตุ้นการทำงานผ่าน caspases โดยเฉพาะ caspase-3 (Roy *et al.*, 2005)