

242615

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



242615

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและการเกาะติดเซลล์มะเร็ง
ของสมุนไพรบางชนิดในวงศ์รูตาซีอี

Cytotoxic Activity and Cancer Cell Adhesion of
Some Medicinal Plants in Family Rutaceae

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. ภกญ.บุษบัน ศิริธัญญาลักษณ์
หัวหน้าโครงการวิจัย

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี ๒๕๕๓

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและการเกาะติดเซลล์มะเร็ง
ของสมุนไพรบางชนิดในวงศ์รูตาซีอี

Cytotoxic Activity and Cancer Cell Adhesion of
Some Medicinal Plants in Family Rutaceae

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. ภกญ.บุษบัน ศิริธัญญาลักษณ์
หัวหน้าโครงการวิจัย



คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี ๒๕๕๓

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

242615

ชื่อเรื่อง	ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและการเกาะติดเซลล์มะเร็งของสมุนไพรไทยบางชนิดในวงศ์รูตาซิอี
ผู้วิจัย	รองศาสตราจารย์ ดร.นุชนัน ศิริธัญญาลักษณ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คำสำคัญ	ความเป็นพิษต่อเซลล์, การยับยั้งการเกาะติด, สมุนไพรไทย, วงศ์รูตาซิอี

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองความเป็นพิษและยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 และ HCT 116 ด้วย cell proliferation reagent WST-1 และ crystal violet solution ตามลำดับ การศึกษานี้ได้คัดเลือกเนื้อไม้ของสมุนไพรไทยในวงศ์รูตาซิอีจำนวน 5 ชนิด คือ มะกรูด ส้มโอ มะเขว่น มะขวงและหัสศุน พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเนื้อไม้มะกรูดและหัสศุนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 มีค่า 50% inhibition concentration เท่ากับ 193.16 ± 4.79 และ 183.14 ± 3.89 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ นอกจากนั้นสารสกัดหยาบของสมุนไพรทั้งสองชนิดยังสามารถยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย โดยมีค่า 50% inhibition concentration เท่ากับ 86.30 ± 3.19 และ 99.60 ± 3.87 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดหยาบส่วนเนื้อไม้มะกรูดและหัสศุนมาทำการสกัดแยกส่วนด้วยเฮกเซน เอธิลอะซีเตต บิวทานอลและน้ำ ตามลำดับ จากนั้นจึงนำมาทดสอบความเป็นพิษและการยับยั้งการเกาะติดเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงอีกครั้ง พบว่าส่วนสกัดเอธิลอะซีเตตของเนื้อไม้หัสศุนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 และ HCT 116 สูงที่สุด มีค่า 50% inhibition concentration เท่ากับ 90.23 ± 1.21 และ 93.52 ± 1.43 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน cisplatin ที่มีค่า 50% inhibition concentration เท่ากับ 6.98 ± 0.66 และ 3.52 ± 0.41 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ สำหรับการยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 และ HCT 116 พบว่าส่วนสกัดเฮกเซนของเนื้อไม้มะกรูดมีความสามารถยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 และ HCT 116 สูงที่สุด มีค่า 50% inhibition concentration เท่ากับ 91.64 ± 1.18 และ 68.17 ± 0.89 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน cisplatin ที่มี 50% inhibition concentration เท่ากับ 3.38 ± 0.42 และ 1.97 ± 0.24

µg/ml ตามลำดับ เพื่อให้ได้ข้อมูลของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าว จะต้องมีการนำ
ส่วนสกัดดังกล่าวมาแยกสารบริสุทธิ์และตรวจเอกลักษณ์หาโครงสร้างทางเคมีต่อไป

ABSTRACT

242615

TITLE Cytotoxic Activity and Cancer Cell Adhesion of Some Thai Medicinal Plants in Family Rutaceae

RESEARCHER Associate Prof. Dr. Busaban Sirithunyalug
Department of Pharmaceutical Sciences
Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University

KEYWORDS Cytotoxic activity, Inhibit cell adhesion, Thai medicinal plant, Family Rutaceae

The objectives of this study are to screen the cytotoxic activity and inhibit the cell adhesion against colorectal carcinoma cell lines HT-29 and HCT 116 through cell proliferation reagent WST-1 and crystal violet solution assay, respectively. Five kinds of Thai medicinal plants wood in family Rutaceae were selected, *Citrus hystrix* DC., *Citrus maximar* Merr., *Zanthoxylum limonella* Alston., *Zanthoxylum rhetsa* and *Micromelum minutum*. The dry powder was soxhlet's extraction with ethanol and evaporated under reduced pressure to gave ethanolic extracts. All extracts were determined for cytotoxic activity and inhibition of cell adhesion against colorectal carcinoma cell lines HT-29 and HCT 116. *C. hystrix* and *M. minutum* crude extract exerted the cytotoxic activity against HT-29 and HCT 116 with 50% inhibition concentration value of 193.16 ± 4.79 and 183.14 ± 3.89 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Furthermore, the extracts also exhibited the inhibition of HCT 116 adhesion with 50% inhibition concentration value of 86.30 ± 3.19 and 99.60 ± 3.87 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Therefore, *C. hystrix* and *M. minutum* crude extracts were selected to partition with hexane, ethyl acetate, butanol, and aqueous, respectively. The ethyl acetate fraction of *M. minutum* showed the highest cytotoxic activity against colorectal carcinoma cell lines HT-29 and HCT 116 with 50% inhibition concentration value of 90.23 ± 1.21 and 93.52 ± 1.43 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The activity was compared to cisplatin with 50% inhibition concentration value of 6.98 ± 0.66 and 3.52 ± 1.43 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The hexane fraction of *C. hystrix* exerted the highest inhibition of HT-29 and HCT 116 adhesion with 50% inhibition concentration value of $91.64 \pm$

1.18 and 68.17 ± 0.89 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The activity was compared to cisplatin with 50% inhibition concentration value of 3.38 ± 0.42 and 1.97 ± 0.24 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Further investigations into the isolation and identification of active compound from ethyl acetate fraction of *M. minutum* and hexane fraction of *C. hystrix* are needed to better evaluate their cytotoxic activity and inhibit cell adhesion against colorectal carcinoma.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุมัติงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ.2553 แก่คณะผู้วิจัย จึงทำให้โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และใคร่ขอขอบคุณที่ได้ช่วยสนับสนุนในด้านสถานที่และเครื่องมืออุปกรณ์ในการดำเนินการวิจัย

ขอขอบคุณ Dr.Francoise Raynaud จาก Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques-UMR 8601, Institut interdisciplinaire des Sciences du Vivant des Saints-Pères, Université Paris Descartes นครปารีส ประเทศฝรั่งเศส ที่คอยให้คำปรึกษาและแนะแนวทางในการทดสอบความเป็นพิษและการยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็ง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีย์ จันทร์สกาวิ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อำไพ พฤติวรพงศ์กุล และอาจารย์ ดร.ดรุณี หงส์วิเศษ ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการคัดเลือกสมุนไพรในวงศ์รูตาซีอี ที่นำมาใช้ทดสอบในโครงการนี้

เมษายน พ.ศ.2554

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
Abstract	iii
กิตติกรรมประกาศ	v
สารบัญ	vi
สารบัญตาราง	vii
สารบัญรูป	viii
บทที่ 1 ที่มีและความสำคัญของปัญหาการทดลอง	1
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	6
บทที่ 3 การทดลอง	10
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	17
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	48
เอกสารอ้างอิง	49

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 %yield ของสารสกัดหยาบ	16
ตารางที่ 2 %yield ของส่วนสกัด (fraction) จากเนื้อไม้มะกรูดและหัสคุณ	28
ตารางที่ 3 50% inhibition concentration ของส่วนสกัดเนื้อไม้มะกรูดและหัสคุณ	45

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116	10
รูปที่ 2 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29	11
รูปที่ 3 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้มะกรูด	17
รูปที่ 4 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ส้มโอ	17
รูปที่ 5 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้มะขวง	18
รูปที่ 6 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้มะแขว่น	18
รูปที่ 7 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้หัสศุณ	19
รูปที่ 8 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้มะกรูด	19
รูปที่ 9 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ส้มโอ	20
รูปที่ 10 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้มะขวง	20
รูปที่ 11 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้มะแขว่น	21
รูปที่ 12 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้หัสศุณ	21
รูปที่ 13 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้มะกรูด	22
รูปที่ 14 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้ส้มโอ	23
รูปที่ 15 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้มะขวง	23

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 16 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้มะแขว่น	24
รูปที่ 17 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้หัตศุน	24
รูปที่ 18 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้มะกรูด	25
รูปที่ 19 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้ส้มโอ	25
รูปที่ 20 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้มะขวง	26
รูปที่ 21 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้มะแขว่น	26
รูปที่ 22 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของสารสกัดหยาบ จากเนื้อไม้หัตศุน	26
รูปที่ 23 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดเฮกเซนจากเนื้อไม้มะกรูด	28
รูปที่ 24 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดเอทิลอะซีเตตจากเนื้อไม้มะกรูด	29
รูปที่ 25 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดปิพทานอลจากเนื้อไม้มะกรูด	29
รูปที่ 26 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดน้ำจากเนื้อไม้มะกรูด	30
รูปที่ 27 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดเฮกเซนจากเนื้อไม้มะกรูด	30
รูปที่ 28 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดเอทิลอะซีเตตจากเนื้อไม้มะกรูด	31
รูปที่ 29 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดปิพทานอลจากเนื้อไม้มะกรูด	31

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 30	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดน้ำจากเนื้อไม้มะกรูด	32
รูปที่ 31	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด เฮกเซนจากเนื้อไม้มะกรูด	32
รูปที่ 32	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด เอทิลอะซีเตตจากเนื้อไม้มะกรูด	33
รูปที่ 33	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด บิวทานอลจากเนื้อไม้มะกรูด	33
รูปที่ 34	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด น้ำจากเนื้อไม้มะกรูด	34
รูปที่ 35	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด เฮกเซนจากเนื้อไม้มะกรูด	34
รูปที่ 36	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด เอทิลอะซีเตตจากเนื้อไม้มะกรูด	35
รูปที่ 37	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด บิวทานอลจากเนื้อไม้มะกรูด	35
รูปที่ 38	การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด น้ำจากเนื้อไม้มะกรูด	36
รูปที่ 39	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดเฮกเซนจากเนื้อไม้หัสคุณ	36
รูปที่ 40	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดเอทิลอะซีเตตจากเนื้อไม้หัสคุณ	37
รูปที่ 41	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดบิวทานอลของเนื้อไม้หัสคุณ	37
รูปที่ 42	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HT-29 ของส่วนสกัดน้ำจากเนื้อไม้หัสคุณ	38
รูปที่ 43	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดเฮกเซนจากเนื้อไม้หัสคุณ	38

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 44 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดเอธิลอะซีเตตจากเนื้อไม้หัตสคุณ	39
รูปที่ 45 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดบิวทานอลจากเนื้อไม้หัตสคุณ	39
รูปที่ 46 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง HCT 116 ของส่วนสกัดน้ำจากเนื้อไม้หัตสคุณ	40
รูปที่ 47 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด เฮกเซนจากเนื้อไม้หัตสคุณ	40
รูปที่ 48 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด เอธิลอะซีเตตจากเนื้อไม้หัตสคุณ	41
รูปที่ 49 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด บิวทานอลจากเนื้อไม้หัตสคุณ	41
รูปที่ 50 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ของส่วนสกัด น้ำจากเนื้อไม้หัตสคุณ	42
รูปที่ 51 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด เฮกเซนจากเนื้อไม้หัตสคุณ	42
รูปที่ 52 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด เอธิลอะซีเตตจากเนื้อไม้หัตสคุณ	43
รูปที่ 53 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด บิวทานอลจากเนื้อไม้หัตสคุณ	43
รูปที่ 54 การยับยั้งการเกาะติดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT 116 ของส่วนสกัด น้ำจากเนื้อไม้หัตสคุณ	44