



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นโพงเทง

Biological Activity of Hogweed

นางสาวธนาวดี ก่ออานันต์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย (เงินรายได้) ประจำปี 2558

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นโพงเทง

Biological Activity of Hogweed

นางสาวธนาวดี ก่ออานันต์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย (เงินรายได้) ประจำปี 2558

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นโทงเทง

แหล่งเงินทุน ทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภท เงินอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้)

ประจำปี พ.ศ. 2558 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2558

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ นางสาวนาวดี ก่ออานันต์ สังกัด คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

บทคัดย่อภาษาไทย

การศึกษานี้ได้สนใจที่จะทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญจากส่วนของผลจากต้นโทงเทง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งและการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามิดีเนสที่ได้จากไวรัส H5N1 จากการสกัดจากส่วนผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 40°C พบว่าสารสกัดที่ได้จากผลของต้นโทงเทงสามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูง มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดได้ดี ได้แก่ แบคทีเรีย *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603, แบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra และรา *Magnaporthe grisea* Mat 1-1 THL1156 พบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *K. pneumonia* ได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *M. tuberculosis* H₃₇Ra โดยการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *K. pneumonia* มีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 0.65 ± 0.33 ug/mL และการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *M. tuberculosis* H₃₇Ra มีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 3.28 ± 0.85 ug/mL และพบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของราก่อโรค *M. grisea* ได้ เมื่อใช้สิ่งสกัดความเข้มข้น 50 ug/mL มีค่าการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ได้ประมาณ 43.25 ± 9.73%

นอกจากนี้สารสกัดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด ได้แก่ มะเร็งปอด มะเร็งในช่องปาก มะเร็งตับและมะเร็งลำไส้ พบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด NCI-H187 ได้สูงกว่าความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดอื่นที่ถูกนำมาทดสอบ มีค่า IC₅₀ ± SE ของการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอด NCI-H187 ประมาณ 15.06 ± 0.49 µg/mL และสารสกัดยังสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามิดีเนสจากไวรัส H5N1 ได้ดี โดยมีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 78.00 ± 30.02 ug/mL

คำสำคัญ: ต้นโทงเทง, เซลล์มะเร็งและ เอนไซม์นิวรามิดีเนส

Research Title : Biological Activity of Hogweed

Researcher : Miss Thanavadee Korarnan

Faculty : Science Department : Biology

ABSTRACT

This study interests to test the important biological activities from fruit of *Physalis angulata* L. e.g. antioxidation, antimicrobials, anticancer and anti neuramidinase (from H5N1 virus) activities from the extraction of fruit with acetone using ultrasonic for 30 นาที at 40°C. It was found that this extract has a potency of DPPH scavenging, antimicrobials activity (e.g. *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603, *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra and *Magnaporthe grisea* Mat 1-1 THL1156). The extract can inhibit the *K. pneumonia* growth higher than the inhibition of *M. tuberculosis* H₃₇Ra growth, the IC₅₀ ± SE against *K. pneumonia* growth was 0.65 ± 0.33 ug/mL, the IC₅₀ ± SE against *M. tuberculosis* H₃₇Ra growth was 3.28 ± 0.85 ug/mL and the inhibition against *M. grisea* growth of extract concentration at 50 ug/mL was 43.25 ± 9.73 %

This extract also inhibited several cancer cells e.g. lung cancer (NCI-H187), oral cavity cancer (KB-16), colon cancer (Caco2) and hepatocacinoma (HepG2). The antiproliferation of NCI-H187 was higher than another cancer cell. The IC₅₀ ± SE against NCI-H187 was 15.06 ± 0.49 µg/mL. Moreover, this extract can inhibit the neuramidinase activity which the IC₅₀ ± SE was 78.00 ± 30.02 ug/mL

Keywords : *Physalis angulata* L., cancer cell line and neuraminidase

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นโหงเทง ครั้งนี้ ได้รับแหล่งเงินทุน ทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทเงินอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้) ประจำปี พ.ศ. 2558 ซึ่งได้ข้อมูลการทดสอบเบื้องต้นมาจากการการสกัดสารสำคัญจากส่วนต่างของ ต้นโหงเทง (*Physalis angulata* L.) ที่สกัดด้วยเครื่องชอกท์เลต จากโครงการพิเศษเรื่อง “ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โปรตีโอไลติกจากโหงเทง (antimicrobial, antioxidants and antiproteolytic activity of from *Physalis angulata* L.)” ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ภาคชีววิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำสั่งสอนตลอดจนเป็นที่ปรึกษาที่ดี ขอขอบคุณนักศึกษาโครงการพิเศษนี้ได้แก่ นางสาวศิริพัชร อักโขสุวรรณ, นางสาวศิริพร บำเพ็ญผลและนาย ทิชาภัทร เดชนรสสิงห์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก เกี่ยวอุปกรณ์ เครื่องมือและเชื้อแบคทีเรียในการวิจัย ทำให้โครงการครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ธนาวดี ก่ออานันต์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	๗
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 แนวคิด ทฤษฎี.....	3
2.2 สรรพคุณทางยา.....	5
2.3 ฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นโทงเทง.....	6
2.3.1 การยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัว.....	6
2.3.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน.....	7
2.3.3 ฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง.....	10
2.3.4 ฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ.....	13
2.4 สารเคมีจากต้นโทงเทง.....	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	16
3.1 การเก็บตัวอย่างพืชและการพิสูจน์พันธุ์พืช.....	16
3.2 การสกัดพืช.....	16
3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน.....	17

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของรา <i>Magnaporthe grisea</i> Mat 1-1 THL1156.....	18
3.5 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Ra.....	19
3.6 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย <i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603....	20
3.7 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งช่องปาก KB ATCC-CCL-17	21
3.8 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอด NCI-H187 ATCC-CRL-5804.....	22
3.9 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับ HepG2 ATCC HB-8065.....	23
3.10 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ Caco2 ATCC HBT-37.....	24
3.11 การทดสอบการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase).....	25
3.12 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	26
3.13 การคำนวณค่า IC ₅₀	26
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	27
4.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน.....	27
4.2 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย <i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603.....	28
4.3 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Ra.....	30
4.4 การยับยั้งการเจริญของรา <i>Magnaporthe grisea</i> Mat 1-1 THL1156.....	31
4.5 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB-oral cavity).....	32
4.6 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187).....	34
4.7 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 ATCC HB-8065).....	35
4.8 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco2 ATCC HBT-37).....	36
4.9 การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase, NA).....	38
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	39
บทที่ 6 สรุปผลผลิตการวิจัย.....	40
บรรณานุกรมและเอกสารอ้างอิง.....	41
ภาคผนวก.....	44
สรุปการใช้จ่ายเงิน.....	47
ประวัตินักวิจัย.....	48

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่	
2.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากส่วนต่าง ๆ ของต้นโทงเทง.....	8
2.2 สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพและสารอาหารจากส่วนของผลของพืชตัวอย่าง ในจีนัส <i>Physalis</i> เปรียบเทียบกับมะเขือเทศ (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	9
3.1 ปริมาณสารสกัดจากต้นโทงเทงที่สกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 30 นาที.....	17

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

2.1 ก. ลักษณะลำต้น, ดอกและผล, และกลีบเลี้ยงและผลของต้นโทงเทง	
ข. การกระจายพันธุ์ของต้นโทงเทงบริเวณภูมิภาคต่าง ๆ.....	4
2.2 ลักษณะผลโทงเทงตากแห้ง เก็บมาจาก อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ.....	5
2.3 การติดเชื้อ <i>T. cruzi</i> จากพาหะที่เป็นยุงใน วงศ์ย่อย Triatominae	
ระยะ trypanomastigotes-amastigotes ในคน และในระยะ	
trypanomastigotes-epimastigotes ในแมลง.....	7
2.4 ลักษณะของลำต้นและผลของพืชในจีนัส <i>Physalis</i> ได้แก่ <i>P. pubescens</i> var <i>grisea</i> (A);	
<i>P. chenopodifolia</i> (B), <i>P. acutifolia</i> (C); <i>P. pubescens</i> var. <i>pubescens</i> (D).....	9
2.5 สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชในจีนัส <i>Physalis</i> species (a);	
สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสปิชีส์ <i>angulata</i> (b) คำนวณความเชื่อมั่นด้วยวิธีทาง	
บูตสเตรบ.....	10
2.6 โครงสร้างสาร physangulide B (1); 4-O-acetylphysangulide B (2)	
และ physangulide- aetonide (3).....	12
2.7 สารเคมีที่ได้จากต้นโทงเทง.....	15
4.1 กราฟแสดงฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระที่เป็น DPPH ของสิ่งสกัดจากผลของโทงเทง	
ที่สกัดด้วยอะซิโตน ความเข้มข้น 0.001 – 1.00 ug/mL (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ	
แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)).....	27
4.2 กราฟแสดงการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย <i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603	
ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้น 1.560-50.00 ug/mL	
เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Ofoxacin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่าง	
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)).....	29
4.3 กราฟแสดงการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Ra	
ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง	
1.56-50.00 ug/mL เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Streptomycin ($p < 0.01$)).....	31

สารบัญญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่

4.4 กราฟแสดงการยับยั้งการเจริญของรา <i>Magnaporthe grisea</i> ของสารสกัดจากผล ด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 1.56-50.00 ug/mL ($p < 0.01$) เปรียบเทียบกับยาแอมโฟเทอริซิน บี ความเข้มข้น 0.391 mg/mL (ตัวอักษรแตกต่างกัน ที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)).....	32
4.5 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB-oral cavity) ของสารสกัดจากผล ด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 0.206-50.00 ug/mL เปรียบเทียบ กับยา Doxorubicin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p < 0.01$)).....	33
4.6 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) ของสารสกัดจากผลด้วย ตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 0.206-50.00 ug/mL เปรียบเทียบ กับยา Ellipticin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p < 0.01$)).....	34
4.7 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 ATCC HB-8065) ของสารสกัดจากผลด้วยตัว ทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 3.130-100.00 ug/mL เปรียบเทียบกับ ยา Ellipticin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)).....	36
4.8 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco2 ATCC HTB-37) ของสารสกัดจากผล ด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 3.130-100.00 ug/mL เปรียบเทียบ กับยา Ellipticin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($p < 0.01$)).....	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่

4.9 บอกระดับแสดงค่าการผันแปรของของค่ากิจกรรมการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์
 Neuraminidase ของสารสกัดจากตัวทำละลายอะซิโตนของผลโหนดของพืชเปรียบเทียบกับ
 ยา Oseltamivir- carboxylate ($p < 0.01$).....38

นิยามศัพท์เฉพาะ

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
Median Effective Dose (ED ₅₀)	ปริมาณของสารต่อหน่วยน้ำหนักตัวที่ทำให้สัตว์ทดลองแสดงอาการของการทดสอบเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของสัตว์ทดลองทั้งหมด
Minimal Inhibitory Concentration (MIC)	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์
half maximal inhibitory concentration (IC ₅₀)	ค่าความเข้มข้นที่ให้ผลการยับยั้งครึ่งหนึ่ง
Half maximal effective concentration (EC ₅₀)	ค่าความเข้มข้นที่ให้ผลการยับยั้งครึ่งหนึ่ง
reactive oxygen species (ROS)	อนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
μM	ไมโครโมลาร์
μg/mL	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
SOD	superoxide dismutase
TBARS	thiobarbituric acid reactive substance
MMP-2	matrix metalloproteinase-2
u-PA	urokinase plasminogen activator
vascular endothelial growth factor (VEGF)	สารกระตุ้นเซลล์เยื่อบุผิวเส้นเลือด
HO-1	เอนไซม์ heme oxygenase-1
HSP70	heat shock protein 70