

สถานการณ์การวิจัยด้านเภสัชวิทยา และพิษวิทยาของสลอด
Current Research On Pharmacological and Toxicological
of *Croton tiglium* Linn.

รณชัย ภูวนานา^{1*} นฤวัตร ภักดี¹ และ สมศักดิ์ นวลแก้ว²

Ronnachai Poowanna^{1*}, Naruwat Pakdee¹ and Somsak Nualkaew²

¹ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

² คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

¹ Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus

² Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University

*Corresponding author email: Ronnachai.pw@rmu.ac.th

วันที่รับบทความ (Received)

11 กรกฎาคม 2567

วันที่ได้รับบทความฉบับแก้ไข (Revised)

14 สิงหาคม 2567

วันที่ตอบรับบทความ (Accepted)

26 สิงหาคม 2567

บทคัดย่อ

สลอด (*Croton tiglium* L.) เป็นสมุนไพรในวงศ์ Euphorbiaceae ที่ใช้ในแพทย์แผนไทยเป็นยาถ่ายอย่างแรง แก้ปวดมวน ขับลม แก้หืดไอ แก้เสมหะ ถ่ายน้ำเหลืองเสีย ถ่ายเสมหะ และถ่ายพยาธิ นอกจากนี้ยังใช้ในการรักษาอาการคล้ายโรคเมรัยหลายตำรับ ลูกสลอดมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ น้ำมัน (30.00-56.00%) คาร์โบไฮเดรต (16.15%) โปรตีน (16.00%) เส้นใย (8.25%) และเถ้า (3.60%) สารเคมีที่พบในลูกสลอดได้แก่ Phorbol esters เช่น Phorbol-12-myristate-13-acetate รวมทั้งอัลคาลอยด์ กรดไขมัน และกรดอะมิโน สารในกลุ่ม Phorbol esters มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการ เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อรา เชื้อไวรัส และแบคทีเรีย ฤทธิ์ระคาย ฤทธิ์เพิ่มการตอบสนองต่อวัคซีน และฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง สารเคมีที่แยกได้จากลูกสลอดสามารถต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งตับ มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งปอด มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งเต้านม และมะเร็งกระเพาะอาหาร สารเคมีเหล่านี้มีความเข้มข้นในการยับยั้งเซลล์มะเร็งครึ่งหนึ่งอยู่ในระดับไมโครโมลาร์ อย่างไรก็ตาม ลูกสลอดมีสาร Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) ซึ่งมีพิษ และสามารถกระตุ้นให้เกิดมะเร็ง (tumor promoter) แม้จะมีการพัฒนาวิธีลดพิษของลูกสลอดและสามารถลดปริมาณสาร PMA ได้จริง แต่ยังคงขาดข้อมูลที่ครบถ้วนเกี่ยวกับการลดพิษการกระตุ้นการเกิดมะเร็ง หากสามารถพิสูจน์ว่าวิธีการลดพิษดังกล่าวสามารถลดปริมาณสาร PMA และทำให้ฤทธิ์กระตุ้นการเกิดมะเร็งหายไปได้ จะทำให้สลอดเป็นสมุนไพรที่น่าสนใจในการรักษา มะเร็งในอนาคต โดยเฉพาะการค้นพบใหม่เกี่ยวกับสารกลุ่ม Phorbol ที่ออกฤทธิ์กระตุ้น Protein kinase C (PKC activators) บางไอโซฟอร์มที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งมะเร็ง ซึ่งการพัฒนาต่อยอดด้านมะเร็งที่มีความจำเพาะต่อ PKC บางไอโซฟอร์มกำลังเป็นที่สนใจอย่างมาก

คำสำคัญ: องค์ประกอบทางเคมี, ความเป็นพิษ, สลอด

Abstract

Croton tiglium L., commonly known as Purging Croton and classified under the Euphorbiaceae family, has been traditionally used in Thai medicine as a potent purgative to treat colic, asthma, cough, phlegm,

lymphatic disorders, cathartic, blood disorders, and parasitic infections. The seeds of *Croton tiglium* are incorporated in various formulations for treating symptoms resembling cancer. The chemical composition of the seeds includes oil (30.00-56.00%), carbohydrates (16.15%), proteins (16.00%), fibers (8.25%), and ash (3.60%). Key chemical constituents of the seeds are phorbol esters such as Phorbol-12-myristate-13-acetate, along with alkaloids, fatty acids, and amino acids. Phorbol esters exhibit a range of pharmacological activities, including antifungal, antiviral, antibacterial, laxative, vaccine adjuvant and anti-inflammatory properties. Notably, they demonstrate significant anticancer properties, effectively inhibiting the growth of cancer cells, including liver cancer, leukemia, lung cancer, prostate cancer, breast cancer, and gastric cancer. The inhibitory concentrations (IC_{50}) of these compounds are typically within the micromolar range. Despite its medicinal potential, the presence of phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) poses a major drawback due to its toxicity and role as a tumor promoter. Various methods have been developed to reduce the toxicity of *Croton tiglium* seeds, effectively lowering PMA levels. However, comprehensive data on the reduction of carcinogenic promotion activity is still lacking. If these detoxification methods can be proven to effectively reduce both PMA levels and its carcinogenic promotion activity, *Croton tiglium* could emerge as a promising herbal alternative for cancer treatment. Recent discoveries highlight the potential of phorbol esters as Protein kinase C (PKC) activators that inhibit specific PKC isoforms linked to cancer inhibition. The development of cancer therapies targeting specific PKC isoforms is currently a significant area of interest.

Keywords: Chemical Compounds, Toxicity, *Croton tiglium* Linn.

เนื้อหา

ลูกสลอดได้จากพืชที่มีชื่อว่า *Croton tiglium* Linn. ในวงศ์ Euphorbiaceae เป็นสมุนไพรที่พบได้ทั่วไปในเขตร้อน เช่น ไทย อินเดีย ศรีลังกา จีน และมาเลเซีย [1] แพทย์แผนไทยใช้ลูกสลอดเป็นยาถ่ายอย่างแรง แก้วปวดมวนท้อง แก้วลม แก้วหืดไอ แก้วเสมหะ ถ่ายน้ำเหลืองเสีย ถ่ายลม ถ่ายเสมหะ ถ่ายโลหิต และถ่ายพยาธิ โดยนิยมใช้ลูกสลอดผสมอยู่ในตำรับยาไทยหลายตำรับ เช่น ยาตัดรากกระษัย ยาประจุกกระษัยปลาหมอ ยาแก้กระษัยลิ้นกระบือ ยาประจุกกระษัยดาน ยาประจุกกระษัยทั้งปวง ยาแก้กระษัยกร่อนเถา ยาทาแก้ปวดฝี ยาแก้ฝีฤดูณะราย และยาแก้ฝีรากขน เป็นต้น ซึ่งเป็นตำรับยาใช้รักษาอาการที่เทียบเคียงกับโรคแผนปัจจุบันคือโรคมะเร็ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในปัจจุบัน พบว่าลูกสลอดมีฤทธิ์ด้านการเจริญของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งตับ [2] มะเร็งเม็ดเลือดขาว [3] มะเร็งปอด [3, 4] มะเร็งกระเพาะอาหาร [3] เป็นต้น

ในขณะเดียวกันก็พบว่าสารในลูกสลอดมีสาร Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยส่งเสริมให้เกิดมะเร็ง (Promoting agent) ซึ่งจากการพบสารดังกล่าวในลูกสลอดทำให้ประเทศไทยประกาศให้ลูกสลอดและน้ำมันสลอดเป็นสมุนไพรอันตราย ห้ามใช้ในตำรับยาแผนไทย ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องสมุนไพรที่เป็นอันตราย [5] ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2521 [6] ทำให้ในประเทศไทยไม่มีการใช้ลูกสลอดทางการแพทย์อีกเลย แม้ว่าลูกสลอดจะถูกใช้ในทางการแพทย์แผนไทยมาก่อนหน้านั้นหลายร้อยปีแล้วก็ตาม โดยการใช้ลูกสลอดทางการแพทย์แผนไทย ไม่ได้นำมาใช้โดยตรง ต้องนำไปผ่านกรรมวิธีบางอย่างก่อน จึงจะนำไปใช้ผลิทยาได้ จากการประกาศห้ามใช้ลูกสลอดดังกล่าว ทำให้เกิดข้อสงสัยของแพทย์แผนไทยจำนวนมากถึงการห้ามใช้ลูกสลอดเกิดจากการตัดสินใจที่ถูกต้องด้วยข้อมูลที่เพียงพอแล้วหรือไม่ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้มีข้อมูลจากการวิจัยลูกสลอดเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากทั้งด้านองค์ประกอบทางเคมีที่พบว่าสลอดมีสารสำคัญในกลุ่มแอลคาลอยด์ เช่น Crotonoside, Ricinine และ Cocarcinogen A1 [7] ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่พบว่ามีฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อรา [8] เชื้อแบคทีเรีย [9] เชื้อ HIV-1 [10] มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ [11] และฤทธิ์ด้านการเจริญของเซลล์มะเร็งหลายชนิด

ดังที่ได้กล่าวข้างต้นการใช้ลูกสลอดทางการแพทย์แผนไทยต้องผ่านการแปรรูป หรือการการฆ่าฤทธิ์ก่อน ซึ่งมีหลายวิธี [12] ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของลูกสลอดก่อนและหลังการแปรรูป พบว่าเมล็ดสลอดหลังจากการแปรรูปด้วยวิธีที่ 1, 3 และ 4 ข้างต้น มีปริมาณของ PMA ลดลงร้อยละ 44.47, 7.33, 79.76 ตามลำดับ แต่วิธีที่ 2 ทำให้ปริมาณ PMA เพิ่มขึ้น ร้อยละ 13.91 และยังพบว่าหลังจากการแปรรูปมีสารชนิดใหม่เกิดขึ้นด้วย [13]

ผู้เขียนจึงสนใจที่จะรวบรวมผลงานวิจัยดังกล่าวเพื่อประมวลผลถึงความเป็นไปได้ในการนำลูกสลอดมาใช้ให้เกิดประโยชน์อีกครั้งโดยเฉพาะเพื่อการรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งกำลังเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญของประเทศไทยและโลกอยู่ในขณะนี้ ถ้าสามารถหาวิธีกำจัดสารที่เป็นพิษได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือเลือกสกัดเอาเฉพาะสารบางกลุ่มที่ไม่มีพิษ นำมาใช้รักษาโรค อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำลูกสลอดมาใช้รักษาโรคมะเร็ง

องค์ประกอบทางเคมีในลูกสลอด

ลูกสลอด (*Croton tiglium* Linn.) เป็นพืชที่มีสารเคมีหลากหลายประเภทที่มีคุณค่าทางเภสัชกรรมและการใช้งานในทางการแพทย์ ต่อไปนี้คือรายละเอียดขององค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญและประโยชน์ของแต่ละสาร

เมล็ดสลอดมีน้ำมัน Croton oil ปริมาณร้อยละ 40.00-60.00 ซึ่งน้ำมัน Croton oil มีฤทธิ์ระคายเคือง ใช้ในทางการแพทย์เพื่อกระตุ้นการถ่ายอุจจาระ และมีการวิจัยถึงการใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนังบางชนิด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เพื่อกระตุ้นการสลายไขมันในเซลล์ ซึ่งสามารถพบได้ในพืชสกุล Croton ประกอบด้วย

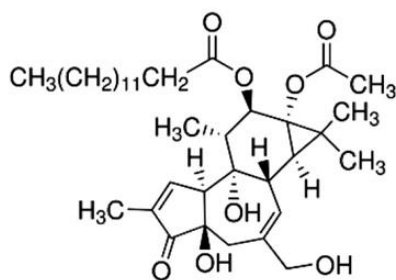
กลุ่มโปรตีนร้อยละ 16.00 ตัวอย่างเช่น Croton globulin และ Croton albumin โปรตีนเหล่านี้มีบทบาทในการเสริมสร้างและซ่อมแซมเนื้อเยื่อในร่างกาย นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและส่งเสริมการรักษาบาดแผล [13, 14]

กลุ่มกรดไขมัน ปริมาณร้อยละ 30.00-56.00 ตัวอย่าง เช่น Decanoic acid, Dodecanoic acid, Hexadecanoic acid, Tetradecanoic acid, 15-Methyl-11-hexadecenoic acid, Heptadecanoic acid, Linoleic acid, Octadecanoic acid [8] Linoleic acid, Oleic acid และ Eicosenoic acid กรดไขมันเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย ช่วยลดการอักเสบและส่งเสริมการทำงานของหัวใจ [15]

กลุ่มเอนไซม์ และกรดอะมิโน เช่น Lipase, Invertase, Amylase, Raffinase, Proteolytic enzyme, Arginine และ Lysine เอนไซม์มีบทบาทในการเร่งกระบวนการเคมีในร่างกาย ส่วนกรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีนที่ช่วยในการเจริญเติบโตและซ่อมแซมเนื้อเยื่อภายในร่างกาย [13]

กลุ่มไดเทอร์ปีน ปริมาณร้อยละ 20.00-30.00 ตัวอย่างเช่น 13-O-acetylphorbol-20-linoleate, 13-O-tiglylphorbol-20-linoleate, 12-O-acetylphorbol-13-tiglate, 12-O-decanoylphorbol-13-(2-Methylbutyrate), 12-O-tiglylphorbol-13-(2-methylbutyrate), 12-O-acetylphorbol-13-decanoate, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, 12-O-(2-methylbutiroyl)-phorbol-13-dodecanoate [10] Deoxyphorbol acetate methylbutanoate, Phorbol acetate methylbutenoate, Deoxyphorbol acetate methylbutenoate, Phorbol methylbutanoate isobutyrate, Phorbol decanoate acetate, Phorbol acetate butyrate สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านมะเร็ง [11], 12-O-tiglylphorbol-13-(2-methyl)butyrate, 12-O-acetylphorbol-13-isobutyrate, 12-O-benzoylphorbol-13-(2-methyl)butyrate, 12-O-tiglyl-7-oxo-5-ene-phorbol-13-(2-methylbutyrate) และ 13-O-(2-methyl)butyryl-4-deoxy-4 α -phorbol [3]

กลุ่มแอลคาลอยด์ ปริมาณร้อยละ 5.00-8.00 ตัวอย่างเช่น Crotonoside [7], Ricinine และ Cocarcinogen A1 สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญ เช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็งและฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาท [16] เป็นต้น



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ PMA ($C_{36}H_{56}O_8$) [17]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในลูกสลอด

1) ฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อรา แบคทีเรีย และเชื้อ HIV-1

ฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อรา

สารสกัดจากลูกสลอดแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่โดดเด่นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลายชนิดที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง เช่น *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* และ *Epidermophyton floccosum* โดยเฉพาะสารสกัดเอทานอลที่ได้จากลูกสลอด (95% ethanol extract) ที่ผ่านกระบวนการหมักและการต้ม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวอย่างมีประสิทธิภาพ [8] ผลการวิจัยยังพบว่าการแยกชั้นด้วย Ethyl acetate สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อ *E. floccosum* ที่มีค่า Minimum inhibitory concentration ที่ต่ำ ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อราได้ดีขึ้น โดยสารออกฤทธิ์หลักคือ Oleic acid [8, 10]

ฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

สารสกัดจากลูกสลอดมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด รวมถึงแบคทีเรียที่พบในกระเพาะอาหาร (Gut bacteria population) การศึกษาวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากลูกสลอดสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีการทดลองใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้นต่างๆ พบว่ามีผลในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีและมีค่า LT_{50} (เวลาในการทำให้แบคทีเรียตายครึ่งหนึ่ง) ที่มีประสิทธิภาพ [9, 13]

ฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV-1

สารในกลุ่ม Phorbol ester ที่พบในลูกสลอด เช่น 12-O-acetylphorbol-13-decanoate และ 12-O-decadienylphorbol-13-(2-methylbutyrate) ได้รับการศึกษาว่ามีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อ HIV-1 โดยสารเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ HIV-1 ได้ด้วยค่า IC_{50} ที่ต่ำมาก (ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ครึ่งหนึ่ง) แสดงถึงศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาต้านไวรัสในอนาคต [10] การศึกษายังแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ของสารเหล่านี้อาจเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญในการเจริญของเชื้อไวรัส ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ช่วยยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อ HIV-1 ในเซลล์ MT-4 และกระตุ้นโปรตีนไคเนสซี (PKC) ได้ [18, 19]

2) ฤทธิ์ระบายน

สารสกัดลูกสลอดที่เตรียมจากการสกัดร้อน (Reflux) ด้วยเมทานอล 3 ชั่วโมง [1] และระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator จากนั้นนำมาสกัดแยกชั้นด้วย Petroleum ether (CP), Ethyl acetate (CE), Normal butanol (n-BuOH parts) และน้ำ ก่อนที่จะนำไปป้อนในหนูที่อดอาหาร 12 ชั่วโมง ขนาด 10.00-200.00 mg/Kg ด้วยวิธี Charcoal method หลังจากนั้น 30 นาที นำมาผ่าตัดหน้าท้อง แล้วตัดเอาลำไส้มาตรวจสอบ พบว่าสารสกัดจากลูกสลอดทั้งหมดเพิ่มอัตราการบีบตัวของลำไส้ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยที่สารสกัดในชั้น CE มีค่ามากที่สุด คือร้อยละ 100 รองลงมาได้แก่ CP, CM และ SCT มีค่า การบีบตัวของลำไส้ เท่ากับร้อยละ 83.23, 77.62 และ 75.06 ตามลำดับ [11] และยังพบว่าเมื่อทำการศึกษาด้วยการป้อนสารสกัดขนาด 100.00-500.00 mg/Kg ทางปาก พบว่าหลังจากให้สารสกัด 5 นาที แล้วผ่าตัดทางช่องท้องดูจำนวนอุจจาระในลำไส้ พบว่ามีปริมาณแปรผันตรงกับขนาดของสารสกัด กล่าวคือ หนูที่ให้สารสกัด 500.00

mg/Kg มีปริมาณออกฤทธิ์มากที่สุดคือ 3.20 กรัม ดังนั้นหนูทดลองที่ให้สารสกัดหยาบจากสลอดมีปริมาณออกฤทธิ์มากกว่าหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) [20] และน้ำมันสลอดยังส่งผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กส่วนกลางของกระต่าย ซึ่งผลการวิจัยเหล่านี้ยืนยันถึงคุณสมบัติเป็นยาระบายของสลอด [21]

3)ฤทธิ์ด้านการอักเสบ

สารสกัดลูกสลอดที่เตรียมจากการสกัดร้อน (Reflux) ด้วยเมทานอล 3 ชั่วโมง [1] และระเหยแห้งด้วยเครื่อง Evaporator จากนั้นนำมาสกัดแยกชั้นด้วย Petroleum ether (CP), Ethyl acetate (CE), Normal butanol (n-BuOH parts) และน้ำ ก่อนที่จะนำไปป้อนในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีอาการอักเสบด้วยกรดอะซิติก แล้วทำการทดสอบด้วยวิธี Writhing test จากนั้นบันทึกเวลาที่หนูสามารถทนต่อความร้อนได้โดย สารสกัดจากชั้น CP และ CE มีค่า ยับยั้งการอักเสบสูงที่สุดที่ความเข้มข้น 20.00 mg/Kg เท่ากับร้อยละ 38.00 และ 36.70 เมื่อเปรียบเทียบกับยาแอสไพริน 100.00 mg/Kg มีค่ายับยั้งการอักเสบเท่ากับ ร้อยละ 80.00 [11] ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่า Acetic acid-induced writhing test

ชนิดสาร	ขนาด (mg/Kg)	Acetic acid-induced writhing test	
		Number of writhes (30 min)	Acetic acid-induced (%)
CM (p.o.)	200.00	21.70	ร้อยละ 11.40
CE (p.o.)	20.00	15.50	ร้อยละ 36.70
CP (p.o.)	20.00	15.20	ร้อยละ 38.00
Aspirin (p.o.)	100.00	8.10	ร้อยละ 80.00

4) ฤทธิ์เพิ่มการตอบสนองของวัคซีน

การสกัดสารสำคัญจากสลอดน้ำหนัก 600.00 กรัม ด้วยเอทานอลร้อยละ 90 ด้วยวิธีการหมักนาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไประเหยแห้งได้สารสกัดหยาบ 12.00 กรัม นำส่วนของสารสกัดหยาบไปละลายในน้ำ และสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งประกอบด้วย n-Hexane (3×500 mL), CHCl₃ (3×500 mL), EtOAc (3×500 mL) และ n-BuOH (3×500 mL) แล้วนำไปสกัดแยกชั้นด้วยตัวทำละลาย n-Hexane/acetone อัตราส่วน ตั้งแต่ 20 : 1 ถึง 1 : 3 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร จะแยกได้ทั้งหมด 10 Fraction แล้วเลือก Fraction ที่ 8 มาแยกต่ออีก 9 Fraction โดยใช้ตัวทำละลาย MeOH/H₂O (1 : 2 ถึง 10 : 1) และเลือกใช้ Fraction ที่ 2 ซึ่งได้ปริมาณสาร PMA 30.20 มิลลิกรัม และนำทดสอบกับเซลล์ Human embryonic kidney 293 หรือ HEK293T cells เพื่อกระตุ้นการตอบสนองของวัคซีน ด้วยวิธี NF- κ B Reporter Assay และ Cytokine Assay จากการศึกษา พบว่าเซลล์ที่ได้รับโปรตีน (FlaB) มีค่าดูดกลืนคลื่นแสงน้อยกว่า เซลล์ที่ได้รับสาร PMA และเมื่อนำ FlaB+PMA พบว่าสารทั้งสองชนิดเสริมฤทธิ์กัน ทำให้มีค่าดูดกลืนคลื่นแสงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จึงกล่าวได้ว่าสารสกัดจากสลอดมีคุณสมบัติในการเสริมฤทธิ์และกระตุ้นการตอบสนองของวัคซีนโดยผ่าน Toll-like receptors (TLRs) นอกจากนั้นยังสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันคือ IgG และ IgE และเพิ่ม IL12 ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้าง T cell ในม้ามอีกด้วย [22]

5)ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน

มีรายงานว่า Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) เป็นทั้งตัวกระตุ้นให้เกิดมะเร็ง (Tumor promoter) และตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดย PMA มีโครงสร้างคล้าย Diacylglycerol ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้น Protein kinase C (PKC activators) ซึ่งจะตอบสนองต่อการกระตุ้น T-cell (T-cell activation) นอกจากนี้ยังพบว่า PMA มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการกระตุ้นการสร้าง Interleukin II (IL2) โดยการจับกับ Receptor แบบไม่จำเพาะ [23]

6) ฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งตับ

จากการทดสอบด้วยการนำลูกกลอด 7.10 กิโลกรัม มาบดเป็นผงแล้วสกัดด้วยเมทานอล (3 รอบ) นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไประเหยแห้ง ได้สารสกัดหยาบ 957.90 กรัม และสกัดต่อกับ Petroleum ether และ n-Butanol ได้สารสกัดหยาบ 740.4 กรัม จากนั้นนำไปสกัดแบบแยกชั้นทั้งหมด 9 ชั้นด้วย Ethyl acetate- Petroleum ether (ร้อยละ 0-100) โดยเลือก Fraction ที่ 4 มาวิเคราะห์พบว่าประกอบด้วย 12-O-tiglylphorbol-4-deoxy-4 β -phorbol-13-acetate (1), 12-O-tiglylphorbol-4-deoxy-4 β -phorbol-13-acetate (2), 13-O-acetylphorbol-4-deoxy-4 β -phorbol-20-oleate (3) และ 13-O-acetylphorbol-4-deoxy-4 β -phorbol-20-linoleate (4) [2] จากนั้นนำสารทั้ง 4 ชนิด ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ 2 ชนิดได้แก่ SNU387 hepatic tumor cell lines และ SNU398 hepatic tumor cell lines ด้วยวิธี MTT assay โดยการนำ Cell line ใส่ลงใน 96-well plate ที่มี RPMI-1640 แล้ววัดค่าการรอดชีวิตด้วย Microplate reader spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 570 nm โดยมี Positive control คือ Paclitaxel ได้ผลดังตารางที่ 2 คือสาร 3-O-acetylphorbol-4-deoxy-4 β -phorbol-20-oleate และ 13-O-acetylphorbol-4-deoxy-4 β -phorbol-20-linoleate สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับชนิด SNU387 และ SNU398 มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.9 ± 0.2 , 13.5 ± 1.1 และ 0.71 ± 0.08 , 18.2 ± 1.7 μ M ตามลำดับ [2]

ตารางที่ 2 แสดงค่าการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับ

ชนิดของสาร	ค่าการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับ (IC ₅₀) μ M	
	SNU387	SNU398
1	59.50 ± 2.10	9.50 ± 1.50
2	30.20 ± 1.40	30.20 ± 3.70
3	1.90 ± 0.20	13.50 ± 1.10
4	0.71 ± 0.08	18.20 ± 1.70
Paclitaxel	0.35 ± 0.05	0.35 ± 0.50

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

การศึกษาสารในกลุ่ม Phorbol จากสารสกัดลูกกลอด ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด K562, U937, MOLT-4 และ HL60 พบว่า 20-deoxy-20-oxophorbol-12-tiglate-13-(2-methyl)butyrate สามารถยับยั้งมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ทั้ง 4 ชนิด มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.20, 1.00, 2.60 และ 1.20 μ M ตามลำดับ [3]

เซลล์มะเร็งปอด

จากการทดสอบโดยการนำลูกกลอดมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 180°C นาน 90 นาที แล้วนำมาล้างด้วยเอทิลอีเทอร์ เพื่อขจัดส่วนที่เป็นน้ำมัน จากนั้นนำมาสกัดด้วยเมทานอล ที่อุณหภูมิ 50°C นาน 5 ชั่วโมง แล้วกรองก่อนที่จะไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดัน ซึ่งได้สารสกัดหยาบลักษณะสีเหลือง เมื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า

ประกอบด้วย (1) Isoguanosine (2) 12-O-acetylphorbol-13-tiglate (3) 13-O-acetylphorbol-20-linoleate จากนั้นนำสารทั้ง 3 ชนิดไปทดสอบกับเซลล์มะเร็งปอดชนิด A549 human lung cancer cell line ด้วยวิธี MTT Assay โดยการนำ cell line ใส่ลงใน 96-well plate ที่มี RPMI 1640 โดยปรับความเข้มข้นของเซลล์ เท่ากับ 1×10^4 cells/well แล้วบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดเติมสารที่สกัดได้จากลูกสลอตที่ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 0.00, 10.00, 50.00, 100.00 และ 200.00 $\mu\text{g/ml}$ บ่มต่อแล้ววัดค่าการรอดชีวิตด้วย Microplate reader spectrophotometer และคำนวณหา IC_{50} จากการทดสอบดังกล่าวพบว่าสาร Isoguanosine สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอดชนิดดังกล่าวได้ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 97.60 $\mu\text{g/ml}$ และสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ร้อยละ 95.00 ส่วนสารอีก 2 ชนิด ได้แก่ 12-O-acetylphorbol-13-tiglate และ 13-O-acetylphorbol-20-linoleate ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอดได้ โดยผลการทดสอบนี้สามารถบอกได้ว่า Isoguanosine ที่ได้จากสลอตมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอดได้ [4] จากการทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญของเซลล์มะเร็งดังกล่าวของสารสกัดจากสลอตพบว่า สามารถยับยั้งได้โดยผ่านกระบวนการ Promote apoptosis through Bax/Bcl-2 pathways [4] ซึ่งโปรตีน Bcl-2 เป็นโปรตีนที่มีหน้าที่เป็นสะพาน Euphorbiaceae Death receptor pathway หรือ Extrinsic pathway กับ Mitochondrial pathway หรือ Intrinsic pathway ซึ่งมีหน้าที่เหมือนเซนเซอร์ และกระตุ้นโปรตีนชนิดอื่นๆ ให้เกิดภาวะ Downstream จนเซลล์เข้าสู่ภาวะ Apoptosis ในที่สุด [24]

มะเร็งต่อมลูกหมาก

พบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งของต้นสลอต ที่แยกได้จากตัวทำละลายเอทานอล มีสาร 12-O-tiglylphorbol-13-isobutyrate สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ชนิด DU145 ได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.1 μM ส่วนสาร 12-O-tiglylphorbol-13-(2-methyl)butyrate, 12-O-acetylphorbol-13-Isobutyrate, 12-O-benzoylphorbol-13-(2-methyl) butyrate, 12-O-tiglyl-7-oxo-5-ene-phorbol-13-(2-methylbutyrate), 13-O-(2-methyl)butyryl-4-deoxy-4 α -phorbol และ tiglin A มีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.30, 7.20, 5.00, 10.00, 10.00 และ 11.00 μM ตามลำดับ [3]

มะเร็งปอด ชนิด H1975

พบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งของต้นสลอต ที่แยกได้จากตัวทำละลายเอทานอล สาร 12-O-benzoylphorbol-13-(2-methyl)butyrate และ 13-O-(2-methyl)butyryl-4-deoxy-4 α -phorbol สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งดังกล่าวได้ดีที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.30 μM เท่ากัน ส่วน 12-O-tiglylphorbol-13-isobutyrate, 12-O-acetylphorbol-13-isobutyrate, 12-O-benzoylphorbol-13-(2-methyl)butyrate, 12-O-tiglyl-7-oxo-5-ene-phorbol-13-(2-methylbutyrate) และ tiglin A มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.00 μM เท่ากัน [3]

มะเร็งเต้านม ชนิด MCF-7

พบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งของต้นสลอต ที่แยกได้จากตัวทำละลายเอทานอล สาร 12-O-acetylphorbol-13-isobutyrate สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งดังกล่าวได้ดีที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 13.00 μM ส่วนสาร 12-O-benzoylphorbol-13-(2-methyl)butyrate, 12-O-tiglyl-7-oxo-5-ene-phorbol-13-(2-methylbutyrate) และ 13-O-(2-methyl)butyryl-4-deoxy-4 α -phorbol มีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.00, 20.00 และ 24.00 μM ตามลำดับ [3]

มะเร็งกระเพาะอาหารชนิด SGC-7901

พบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งของต้นสลอต ที่แยกได้จากตัวทำละลายเอทานอล สาร 13-O-(2-methyl) butyryl-4-deoxy-4 α -phorbol สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดดังกล่าวได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.40 μM ส่วน 12-O-benzoylphorbol-13-(2-methyl)butyrate, 12-O-acetylphorbol-13-isobutyrate, 12-O-tiglyl-7-oxo-5-ene-phorbol-13-(2-methylbutyrate) และ 12-O-tiglylphorbol-13-isobutyrate พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.00, 13.00, 23.00 และ 43.00 μM [3]

จะเห็นว่าการทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด และมะเร็งกระเพาะอาหาร มีค่า IC_{50} น้อยกว่า 50.00 μM

แนวโน้มการพัฒนาต้านมะเร็งจากสารกลุ่ม Phorbol

จากรายงานข้างต้นพบว่าสารกลุ่ม Phorbol มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งหลายชนิด ปัจจุบันได้มีการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าสารกลุ่ม Phorbol ออกฤทธิ์กระตุ้น Protein kinase C (PKC activators) ซึ่ง PKC เป็นกลุ่มของเอนไซม์ Serine/threonine kinases ประกอบด้วย 10 ไอโซฟอร์ม (Isoform) บางไอโซฟอร์มเกี่ยวข้องกับการยับยั้งเนื้องอก ในขณะที่บางไอโซฟอร์มเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเนื้องอก ซึ่งปัจจุบันการพัฒนายาต้านมะเร็งที่มีความจำเพาะต่อ PKC บางไอโซฟอร์ม กำลังเป็นที่สนใจอย่างมาก มีสารหลายชนิดที่อยู่ระหว่างการศึกษาค้นคว้า เช่น Bryostatins, Staurosporine alkaloids, Curcumin และ Resveratrol รวมทั้งสารกลุ่ม Phorbol ในจำนวนนี้มีสารบางชนิดได้เข้าสู่การทดลองทางคลินิกแล้ว เช่น Ingenol mebutate และ Bryostatin 1 โดยใช้ร่วมกับ Paclitaxel [25]

พิษวิทยาของสลอด

1) ความเป็นพิษของสลอด

จากการศึกษา tumor-promoting ของสารกลุ่มไดเทอร์ปีนในสลอด ได้แก่ Phorbol-diacetate, Phorbol-dibenzoate, Phorbol-didecanoate และ Tetradecanoyl-phorbol-acetate ในหนูทดลองอายุ 6-10 สัปดาห์ โดยการโกนขนบริเวณหลังของหนูทดลอง 1-2 วัน แล้วเหนี่ยวนำให้หนูเกิดเนื้องอกโดยใช้ 7,12,-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 51.20 μg ใน Acetone 0.20 ml นาน 2 สัปดาห์ จากการศึกษาศึกษาพบว่าสาร Tetradecanoyl-phorbol-acetate ที่ความเข้มข้น 1.83 μmol /สัปดาห์ สามารถกระตุ้นให้เกิดเนื้องอกชนิด Papilloma ในหนูทดลองได้มากที่สุด รองลงมาคือ Phorbol-diacetate และ Phorbol-didecanoate ส่วนสาร Phorbol-dibenzoate พบว่าที่ความเข้มข้น 0.02 μmol ไม่ทำให้เกิดมะเร็ง และต้องใช้ขนาดมากกว่าสารอื่นๆ 10 เท่า จึงจะทำให้เกิดมะเร็งในหนูทดลอง [26]

นอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae มักจะมีองค์ประกอบของสารกลุ่ม Ester ของกรดไขมันอิ่มตัวจับอยู่ที่ตำแหน่ง C-12 และ 13 ของ Diterpene phorbol และตำแหน่ง C-3 ของ Ingenol เมื่อมาจับที่ Diterpenephorbol จะทำให้กลายเป็น Diterpene ester ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น Tumor promoter ได้ [27] โดยจากการศึกษา 1,2 dimethyl-9,10-benz[a]anthracene (DMBA) 0.10 μM เป็น Initiator และใช้ PMA ร้อยละ 0.50 เป็น promoting ในหนูเพศเมียพบว่า Croton oil 5.50 μg เกิดเนื้องอกในสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งเมื่อติดตามจนครบ 25 สัปดาห์พบว่ามีหนูที่เป็นเนื้องอก ร้อยละ 80.00 [28] เช่นเดียวกับการศึกษาของ Van Duuren และ Sivak (1968) ที่พบว่าสาร PMA และ phorbol-12, 13 didecanoate เป็นสารที่มีฤทธิ์สนับสนุนให้เกิดเนื้องอกได้ โดยที่ Phorbol ester ความเข้มข้นตั้งแต่ 50.00 $\mu g/ml$ สามารถปลดปล่อยสารที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการเกิดเนื้องอกคือ acid hydrolases ได้ [29, 30]

2) การลดพิษของสลอดตามการแพทย์พื้นบ้าน

การใช้ลูกสลอดประกอบเป็นยาทางการแพทย์แผนไทยต้องผ่านการแปรรูป หรือการฆ่าฤทธิ์ก่อน ซึ่งมีหลายวิธี ได้แก่ 1) เอาลูกสลอดกับข้าวเปลือกห่อรวมกัน ใส่เกลือพอสมควรแล้วนำไปต้มกับหม้อดิน เมื่อข้าวเปลือกแตกบานทั่วกัน ก็ให้เอาลูกสลอดมาล้างให้สะอาด นำไปตากให้แห้ง แล้วจึงนำมาปรุงยา 2) เอาใบมะขาม 1 กำมือ ใบส้มป่อย 1 กำมือ มาต้มกับลูกสลอดเมื่อสุกดีแล้วให้เอาเนื้อในของลูกสลอดไปปรุงยา 3) ปอกเปลือกลูกสลอดออกแล้วล้างให้สะอาด นำไปห่อผ้าหุงกับข้าว กวนจนข้าวแห้ง ให้ทำประมาณ 3 ครั้ง แล้วนำลูกสลอดมาคั่วกับน้ำปลาอย่างดีให้เกรียม แล้วนำลูกสลอดมาห่อผ้าบีบเอาน้ำมันออก แล้วนำไปปรุงยา 4) เอาลูกสลอดแช่ในน้ำปลาร้าปากไห 1 คืน แล้วนำไปยัดในลูกมะกรูด ใส่หม้อดินปิดฝา สุมไฟกลบให้สุกดี แล้วนำไปปรุงยาพร้อมกับผลมะกรูด 5) ปอกเปลือกลูกสลอดออกแช่น้ำเกลือไว้สองคืน แล้วเอายัดในผลมะกรูดใส่หม้อดินปิดฝา สุม

ด้วยไฟแอลบ 6) ปอกเปลือกลูกสลอดออก แช่น้ำปลาร้าสามวัน แล้วตากให้แห้ง 7) ปอกเปลือกลูกสลอดแล้วต้มกับเกลือ ตากให้แห้ง ต้มให้ละเอียด แล้วทับเอาน้ำมันออกให้หมด 8) ปอกเปลือกลูกสลอดออกแช่น้ำมูตร 1 วัน ต้มกับน้ำมะพร้าว 1 วัน ต้มกับข้าวสาร 1 วัน ต้มกับน้ำอ้อยแดง 1 วัน ทบให้แห้งตากแดดให้แห้งสนิท 9) ปอกเปลือกลูกสลอดออกเอาเนื้อในตำให้ละเอียด ห่อกระดาษฟางใช้ของหนักทับ เปลี่ยนกระดาษบ่อยๆ จนไม่มีน้ำมัน 10) ปอกเปลือกลูกสลอดออก คั่วกับทรายจนน้ำมันหมด 11) ปอกเปลือกลูกสลอดออก ตำให้ละเอียดคั่วให้เกรียมจนน้ำมันหมด [12]

จากการศึกษาของ อติสรณ์ คงคำ และคณะ ได้เลือกวิธีการแปรรูป 4 วิธี ได้แก่ วิธีที่ 1 นำเมล็ดลูกสลอดใส่ในหม้อดิน เติมน้ำเปลือกลูกสลอด และน้ำ ต้มจนข้าวเปลือกบานทั่วกัน วิธีที่ 2 นำเมล็ดลูกสลอดผสมกับใบมะขาม ใบส้มป่อย ใส่ในหม้อดิน เติมน้ำและต้มจนเดือด วิธีที่ 3 นำเมล็ดลูกสลอดแช่น้ำปลาร้าปากให้ไว้ 1 คืน แล้วเอาใส่ในผลมะกรูด ใส่หม้อดินปิดฝา สุมด้วยไฟแอลบ วิธีที่ 4 นำเมล็ดลูกสลอดตำให้ละเอียด คั่วให้เกรียมจนหมดน้ำมัน มาศึกษา พบว่า เมล็ดสลอดก่อนและหลังการแปรรูป มีปริมาณของ Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) หลังจากการแปรรูปด้วยวิธีที่ 1, 3 และ 4 ลดลงร้อยละ 44.47, 7.33, 79.76 ตามลำดับ แต่วิธีที่ 2 ทำให้ปริมาณ PMA เพิ่มขึ้น ร้อยละ 13.91 และยังพบว่าหลังจากการแปรรูปมีสารชนิดใหม่เกิดขึ้นด้วย [13]

การศึกษาของ Pal และคณะ (2014) ที่ทำการแปรรูปสลอดโดยใช้สลอด 250.00 กรัม แช่น้ำเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำไปต้มเป็นผง แล้วห่อด้วยผ้าฝ้าย และนำไปแขวนในหม้อที่มีนมวัว โดยไม่ให้ผ้าแตะที่ก้นหม้อ ต้มที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดแล้วนำออกมาล้างด้วยน้ำสะอาด 3 รอบ ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นสกัดด้วยเมทานอล 24 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์หาปริมาณสารด้วย High performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าสาร Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) และ Crotonic acid ก่อนแปรรูป มีปริมาณ 5.20 mg/100 g และ 0.10 mg/100 g ตามลำดับ ส่วนหลังการแปรรูป มีปริมาณ PMA ลดลงเหลือ 1.80 mg/100 g ไม่พบสาร Crotonic acid [31]

บทสรุป

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าลูกสลอด (*Croton tiglium* L.) เป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพสูงในการรักษาโรคหลายชนิด โดยเฉพาะโรคเมรั้ง ด้วยสารสำคัญเช่น Phorbol esters ที่แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลากหลาย ทั้งฤทธิ์ต้านเมรั้ง ต้านเชื้อรา ต้านไวรัส ต้านแบคทีเรีย และต้านการอักเสบ แม้ว่าจะมีข้อดีมากมาย ลูกสลอดก็ยังมีความเสี่ยง เนื่องจากมีสาร PMA ซึ่งมีพิษ และสามารถกระตุ้นให้เกิดเมรั้ง การใช้ลูกสลอดในระยะยาวอาจเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดเมรั้งและผลข้างเคียงอื่นๆ เช่น อาการแพ้และการระคายเคือง ดังนั้น ควรมีการวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับวิธีการลดพิษและทดสอบความปลอดภัยในระยะยาว รวมถึงการพัฒนาเทคโนโลยีในการสกัดสารสำคัญและปรับปรุงกระบวนการผลิตเพื่อลดปริมาณสารพิษ PMA การประยุกต์ใช้ลูกสลอดในด้านอื่นๆ เช่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางที่มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพสูงก็เป็นไปได้ สารสกัดจากลูกสลอดที่ผ่านการลดพิษอาจนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมบำรุงผิวและเซรั่มที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านเชื้อรา นอกจากนี้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย อาจสามารถนำมาใช้ในการป้องกันโรคพืชและการควบคุมศัตรูพืชในอุตสาหกรรมเกษตร

ดังนั้นลูกสลอดจึงเป็นสมุนไพรที่มีประโยชน์หลายด้าน แต่การใช้ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยและผลกระทบในระยะยาว รวมถึงต้องมีการวิจัยและพัฒนาวิธีการลดพิษอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถนำมาใช้ในทางการแพทย์และอุตสาหกรรมได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

- 1 Beyer J, Esser H-J, Eurlings M, Vanwelzen P. A revision of the genus *Croton* (Euphorbiaceae) in Sumatra (Indonesia). Blumea. 2023;68(1):1-25.

- 2 Zhang X-l, Khan AA, Wang L-x, Yu K, Li F, Wang M-k. Four new phorbol diesters from *Croton tiglium* and their cytotoxic activities. *Phytochem Lett*. 2016;16:82-86.
- 3 Wang JF, Yang SH, Liu YQ, Li DX, He WJ, Zhang XX, et al. Five new phorbol esters with cytotoxic and selective anti-inflammatory activities from *Croton tiglium*. *Bioorg Med Chem Lett*. 2015;25(9):1986-1989.
- 4 Li C, Wu X, Sun R, Zhao P, Liu F, Zhang C. *Croton tiglium* Extract Induces Apoptosis via Bax/Bcl-2 Pathways in Human Lung Cancer A549 Cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(11):4893-4898.
- 5 Zhang T, Liu Z, Sun X, Liu Z, Zhang L, Zhang Q, et al. Botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacological and toxicological effects of *Croton tiglium* Linn.: a comprehensive review. *J Pharm Pharmacol*. 2022;74(8):1061-1084.
- 6 กระทรวงสาธารณสุข. ยาควบคุมพิเศษ. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 95 ตอนที่ 68 วันที่ 4 กรกฎาคม 2521 2521. p. 2072-2075.
- 7 Lin SC, Lin CC, Li S, Lin WY, Lehman CW, Bracci NR, et al. Alleviation of Collagen-Induced Arthritis by Crotonoside through Modulation of Dendritic Cell Differentiation and Activation. *Plants (Basel)*. 2020;9(11).
- 8 Lin HC, Kuo YL, Lee WJ, Yap HY, Wang SH. Antidermatophytic Activity of Ethanolic Extract from *Croton tiglium*. *Biomed Res Int*. 2016;2016:3237586.
- 9 Ahmed S, Riaz M, Malik A, Shahid M. Effect of seed extracts of *Withania somnifera*, *Croton tiglium* and *Hygrophila auriculata* on behavior and physiology of *Odontotermes obesus* (Isoptera, Termitidae). *Biologia*. 2007;62(6):770-773.
- 10 Salatino A, Salatino MLF, Negri G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *J Braz Chem Soc* 2007;18:11-33.
- 11 Liu Z, Gao W, Zhang J, Hu J. Antinociceptive and Smooth Muscle Relaxant Activity of *Croton tiglium* L Seed: An In-vitro and In-vivo Study. *Iran J Pharm Res*. 2012;11(2):611-620.
- 12 Department of Thai Traditional and Alternative Medicine. Handbook in Thai traditional pharmacy for preparing herbal ingredient. Nonthaburi: The War Veterans Organization of Thailand Under Royal Patronage His majesty the King; 2014.
- 13 Kongkum A, Caichompoo W, Nualkaew S. Amount of Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) in *Croton tiglium* L. Seed Before and After Treatment using Methods of Thai Traditional Medicine. *J Sci Technol MSU*. 2013;33(1):19-25.
- 14 Aboulthana WM, Youssef A, El-Feky AM, Ibrahim NE-S, Seif MM, Hassan AK. Evaluation of antioxidant efficiency of *Croton tiglium* L. seeds extracts after incorporating silver nanoparticles. *Egypt J Chem*. 2019;62(2):181-200.
- 15 Kim M-S, Kim H-R, So H-S, Lee Y-R, Moon H-C, Ryu D-G, et al. *Crotonis fructus* and its constituent, croton oil, stimulate lipolysis in OP9 adipocytes. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;2014.
- 16 Akbar S. *Croton tiglium* L. (Euphorbiaceae). Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications. Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 741-747.

- 17 Yu L, Wu X, Chen M, Huang H, He Y, Wang H, et al. The Effects and Mechanism of YK-4-279 in Combination with Docetaxel on Prostate Cancer. *Int J Med Sci*. 2017;14(4):356-366.
- 18 Matsuya Y, Yu Z, Yamamoto N, Mori M, Saito H, Takeuchi M, et al. Synthesis of new phorbol derivatives having ethereal side chain and evaluation of their anti-HIV activity. *Bioorg Med Chem*. 2005;13(14):4383-4388.
- 19 El-Mekkawy S, Meselhy MR, Nakamura N, Hattori M, Kawahata T, Otake T. Anti-HIV-1 phorbol esters from the seeds of *Croton tiglium*. *Phytochemistry*. 2000;53(4):457-464.
- 20 Pillai NR. Gastro intestinal effects of *Croton tiglium* in experimental animals. *Anc Sci Life*. 1999;18(3-4):205-209.
- 21 Hu J, Gao W-Y, Gao Y, Ling N-S, qi H, Liu C-X. M3 muscarinic receptor- and Ca²⁺ influx-mediated muscle contractions induced by croton oil in isolated rabbit jejunum. *Journal of ethnopharmacology*. 2010;129:377-380.
- 22 Oh DR, Kang HW, Kim JR, Kim S, Park IK, Rhee JH, et al. PMA induces vaccine adjuvant activity by the modulation of TLR signaling pathway. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:406514.
- 23 Weiss A, Wiskocil RL, Stobo JD. The role of T3 surface molecules in the activation of human T cells: a two-stimulus requirement for IL 2 production reflects events occurring at a pre-translational level. *J Immunol*. 1984;133(1):123-128.
- 24 Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, Adams JM. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(1):49-63.
- 25 Matias D, Bessa C, Simões MF, Reis CP, Saraiva L, Rijo P. Natural products as lead protein kinase c modulators for cancer therapy. *Studies in natural products chemistry*. 2016;50:45-79.
- 26 Baird WM, Boutwell RK. Tumor-promoting activity of phorbol and four diesters of phorbol in mouse skin. *Cancer Res*. 1971;31(8):1074-1079.
- 27 Upadhyay RR. Tumour-promoting diterpene esters of the plant family Euphorbiaceae. 1996.
- 28 Raick AN, Thumm K, Chivers BR. Early effects of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate on the incorporation of tritiated precursor into DNA and the thickness of the interfollicular epidermis, and their relation to tumor promotion in mouse skin. *Cancer Res*. 1972;32(7):1562-1568.
- 29 Van Duuren BL, Sivak A. Tumor-promoting agents from *Croton tiglium* L. and their mode of action. *Cancer Res*. 1968;28(11):2349-2356.
- 30 Van Duuren BL. Tumor-promoting agents in two-stage carcinogenesis. *Prog Exp Tumor Res*. 1969;11:31-68.
- 31 Pal PK, Nandi MK, Singh NK. Detoxification of *Croton tiglium* L. seeds by Ayurvedic process of Śodhana. *Ancient science of life*. 2014;33(3):157-161.