



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ตำรับตรีภูก ถ่อมโม่เลกุลเป้าหมายในการยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

Trikatuke recipes on targeting protein for inhibiting
cholangiocarcinoma

โดย

รัชฎาวรรณ อรรถนิมาตย์

ปราณี ศรีราช

นางสาวจตุพร ประทุมเทศ

สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

(รหัสสัญญา กท. 62/2562)

บทคัดย่อ

โรคมะเร็งท่อน้ำดีมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับแบบเรื้อรัง เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญ มีอุบัติการณ์สูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เช่น จังหวัดนครพนม ขอนแก่น และสกลนคร การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลตำรับตรีภูก่อต่อความเป็นพิษและการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี เพื่อศึกษาผลสารสกัดจากตำรับตรีภูก่อร่วมกับยาต้านมะเร็งต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนและชักนำการตายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี เพื่อศึกษาประสิทธิภาพตำรับตรีภูก่อต่อโมเลกุลเป้าหมายในการทำลายเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

สมุนไพรที่ใช้ในการศึกษามีการควบคุมคุณภาพ พบปริมาณสาระสำคัญของสารสกัดสมุนไพรในตำรับตรีภูก่อชั้นน้ำ และเอทานอล ได้แก่ ดีปลี พริกไทย เหน่าชิงแห้ง 1 mg/ml พบว่ามีสารสำคัญ คือ piperine ในดีปลีเท่ากับ 1.05%, 25.86% พบในพริกไทยเท่ากับ 0.83%, 18.29% และพบ 6-gingerol ในชิงปริมาณ <0.01%, 0.02% ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับตรีภูก่อชั้นน้ำ และเอทานอล พบว่าสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC₅₀ = 5,029.69 ± 544.82 µg/ml และ 320.36 ± 31.62 µg/ml) ตามลำดับ

ตำรับตรีภูก่อต่อความเป็นพิษและการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี การทดสอบการเป็นพิษของสารสกัดตำรับตรีภูก่อต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี พบว่าสารสกัดตำรับตรีภูก่อชั้นน้ำที่ยับยั้งการมีชีวิตหรือทำให้เซลล์ตายได้ 50% (Lethal concentration, IC₅₀) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 239.03, 5022.81 และ 5371.98 µg/ml และสารสกัดตำรับตรีภูก่อชั้นเอทานอลที่ยับยั้งการมีชีวิตหรือทำให้เซลล์ตายได้เท่ากับ 439.41, 420.73 และ 416.89 µg/ml

การศึกษาผลสารสกัดจากตำรับตรีภูก่อต่อการยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีที่เวลา 0, 6, 18, 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดตำรับตรีภูก่อชั้นน้ำและเอทานอลสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ ตั้งแต่ 6 ชั่วโมงแรก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดตำรับตรีภูก่อชั้นน้ำและเอทานอล (144 และ 440 µg/ml) สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ดีไม่แตกต่างจากยา gemcitabine และ 5-FU

ผลการศึกษาสารสกัดตำรับตรีภูก่อต่อการหยุดชะงักในวัฏจักรเซลล์ โดยสารสกัดตำรับตรีภูก่อชั้นน้ำทำให้เซลล์หยุดชะงักที่ระยะ S ส่วนชั้น 80% เอทานอล พบว่าวัฏจักรเซลล์ ชะงักที่ระยะ G₂/M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาผลสารสกัดจากตำรับตรีภูก่อร่วมกับยาต้านมะเร็งต่อการชักนำการตายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี พบว่ากลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดตรีภูก่อสกัดด้วย 80% เอทานอล ร่วมกับยาต้านมะเร็ง Gemcitabine มีการตายเพิ่มขึ้น มีค่าเท่ากับ 54.93 %, 72.43 % และ 74.60% ซึ่งพบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (สารสกัดตรีภูก่อสกัดด้วย 80% เอทานอล (ที่ความเข้มข้น IC₈₀) ร่วมกับยาต้านมะเร็ง Gemcitabine ที่ความเข้มข้น IC₃₀, IC₅₀ และ IC₈₀) โดยศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีด้วยวิธี western blot ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ามีการแสดงออกของ CDK2, p21 และ p27 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุปได้ว่าสารสกัดตำรับตรีภูก่อ พบสารสำคัญ piperine และ 6-gingerol ซึ่งสารสำคัญดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดตำรับตรีภูก่อ ยับยั้งวัฏจักรของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีผ่านการทำงานของ CDK2, p21 และ p27 ผลการศึกษานี้จะนำไปใช้เป็นยาทางเลือกใหม่ในการใช้ร่วมกับยาต้านมะเร็งในการรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีในอนาคตได้

คำสำคัญ: ตำรับตรีภูก่อ, สารสกัด, มะเร็งท่อน้ำดี, โมเลกุลเป้าหมาย

Abstract

Cholangiocarcinoma is associated liver fluke infection, attributed to the high prevalence in the Northeast of Thailand such as Nakhon Phanom, Khon Kaen and Sakon Nakhon Provinces. The present study aim to: study the effect of Tri-kra-tuk on the toxicity and inhibition of bile duct cancer cell proliferation. To study the effect of extracts from Tri-kra-tuk formula with anti-cancer drugs on inhibition of proliferation and inducing cholangiocarcinoma (CCA) apoptosis.

To study the efficacy of Tri-kra-tuk on target molecules combating of CCA cell line. The herbs were investigated on quality controls and found the active compound in the Tri-ka-tuk recipe. For Tri-kra-tuk water and ethanoic extract were: Dee-pe, Pepper, Ginger, 1 mg/ml found 1.05% piperine in Dee-pe, 25.86%, Pepper 0.83%, 18.29% and 6-gingerol in ginger found <0.01%, 0.02%. For antioxidant activity of the water and ethanol extract, Tri-ka-tuk was found to inhibit 50% of free radicals were (IC₅₀ = 5,029.69 ± 544.82 ug/ml and 320.36 ± 31.62 ug/ml, respectively.

Tri-kra-tuk on cytotoxicity and inhibition of Cholangiocarcinoma proliferation. For cytotoxicity test of Tri-kra-tuk extract against Cholangiocarcinoma cancer cells were found aqueous extract inhibited or killed 50% (Lethal concentration, IC₅₀) at 24, 48 and 72 hours were 239.03, 5022.81 and 5371.98 ug/ml, and ethanoic extract were 439.41, 420.73 and 416.89 ug/ml, respectively.

A study of the effect of Tri-kra-tuk recipe extract on inhibition of migration on Cholangiocarcinoma cell at 0, 6, 18, 24 hours of Tri-kra-tuk extract (water and ethanol) could inhibit the movement of CCA cell at 6 hours, which statistically difference when compared with the control group, and at the 24-hour period was found that the Tri-kra-tuk extract water and ethanol at 144 and 440 ug/ml were inhibited the migration of cancer cells and not different from the anti-cancer drugs (gemcitabine and 5-FU).

The results on the study of Tri-kra-tuk extract on inhibition of cell cycle, Tri-kra-tuk water extract effect on S-stage arrest, ethanolic extract effect on G₂ / M arrest and were statistically difference. For, the induction of Cholangiocarcinoma cell apoptosis were found that, the group with Tri-kra-tuk ethanolic extract combination with the anti-cancer drug (Gemcitabine) had an increasing on cell apoptosis at 54.93%, 72.43% and 74.60% (Tri-kra-tuk extract with ethanol at IC₈₀ concentration and combination with the anticancer drug Gemcitabine at concentration of IC₃₀, IC₅₀ and IC₈₀) show statistically difference when compare to the control group. The mechanism involved of the inhibition CCA cells was evaluated by western blot analysis. The results of all data showed a statistically significant increased CDK2, p21 and p27 expression.

For conclusion, Tri-kra-tuk extract had active compound were piperine and 6-gingerol, which had the effect of inhibiting free radical and could arrest of CCA cell cycle through regulation of CDK2, p21 and p27. The study could be use of alternative herbal combination with anticancer drugs in the treatment of bile duct cancer in the future.

Key words: Triuktuk recipe, Extract, Cholangiocarcinoma, Target molecules