รายงานผลการดำเนินงานฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์การต้านมะเร็งของสารสกัดจากผักขี้หูดและผักเขียวน้อย ในช่วงอายุต่าง ๆ หลังจากเมล็ดได้รับพลาสมาเย็น

Anticancer activity of Thai rat-tailed radish and mustard green extracts in different growth periods after seeds treated with cold plasma

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. วิจิตรา หลวงอินทร์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

20 มิถุนายน พ.ศ. 2565

บทคัดย่อ

ในรายงานเมื่อเร็วๆ นี้ พบว่าเทคโนโลยีพลาสมาเย็นเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่ช่วยเพิ่มปริมาณสารชีวภาพที่ต้านมะเร็งในไมโครกรีนผักเขียวน้อยและผักขี้หูด อายุ 7 วันได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงผลของอายุของไมโครกรีนผักขี้หูดและผักเขียวน้อยต่อฤทธิ์การต้านมะเร็ง ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะศึกษาการเจริญเติบโต ชนิดและปริมาณสารกลูโคซิโนเลท สารไอโซไธโอไซยาเนท สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 เซลล์มะเร็งตับ HepG2 เซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa เซลล์มะเร็งปอด A549 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 ในช่วงอายุ 14 21 และ 28 วัน หลังจากเมล็ดได้รับพลาสมาเย็น (ผักเขียวน้อยที่ 19 kV เป็นเวลา 5 นาที และผักขี้หูดที่ 21 kV เป็นเวลา 5 นาที)

จากผลการศึกษาโดยส่วนใหญ่ พบว่าพลาสมาเย็นไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต (ความยาวของลำต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง) ของไมโครกรีนทั้ง 2 ชนิด เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ไมโครกรีนจากเมล็ดที่ไม่ได้รับพลาสมาเย็น) ที่อายุเท่ากัน แต่ทว่าพลาสมาเย็นช่วยเพิ่มปริมาณสารกลูโคซิโนเลท สารไอโซไธโอไซยาเนท สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่อายุเท่ากัน ในผักเขียวน้อย พบว่ามีกลูโคซิโนเลท 2 ชนิด คือ ซินิกรินและกลูโคนาพิน และไอโซไธโอไซยาเนท 2 ชนิด คือ อัลลีลไอโซไธโอไซยาเนท และ 3-บิวทีนิล ไอโซไธโอไซยาเนท ส่วนในผักขี้หูด พบว่ามีสารกลูโคราฟาซาติน และราฟาซาติน เพียงชนิดเดียว โดยรวม พบปริมาณสารชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพในผักเขียวน้อยและผักขี้หูดที่สูงที่สุด ในช่วงอายุ 14 และ 21 วัน โดยที่ชุดทดลองพลาสมาส่วนใหญ่มีปริมาณสูงกว่าชุดควบคุมที่อายุเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญ และผักขี้หูดมีปริมาณสารชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าผักเขียวน้อย

ความไวของเซลล์มะเร็งต่อความเป็นพิษของสารสกัดผักเขียวน้อย เรียงตามลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ HeLa > HepG2 > MCF-7 > A549 > HT-29 มีค่า IC_{50} อยู่ที่ 16-78 µg/ml และสำหรับสารสกัดผักขี้หูด เรียงได้ ดังนี้ HeLa > MCF-7 > A549 > HT-29 > HepG2 มีค่า IC_{50} อยู่ที่ 12-60 µg/ml ซึ่งแสดงถึงฤทธิ์การต้านมะเร็งระดับดีถึงดีมาก โดยชุดทดลองพลาสมามีฤทธิ์การต้านมะเร็งสูงกว่าชุดควบคุมที่อายุเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญ และผักขี้หูดมีฤทธิ์การต้านมะเร็งที่ดีกว่าผักเขียวน้อย

ในเชิงกลไกการต้านมะเร็งระดับโมเลกุล พบว่าสารสกัดไมโครกรีนผักเขียวน้อยและผักขี้หูดสามารถยับยั้งการมีชีวิตรอดและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยเหนี่ยวนำการตายของเซลล์มะเร็งด้วยกระบวนการอะพอพโตซิส ผ่านวิถี caspase cascade โดยพบว่ามีการแสดงออกของยีน *Bax*, *caspase-3* และ *p21* และโปรตีน cytochrome c, caspase-3 และ p21 ที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่การแสดงออกของยีน *Bcl-2*, *MMP-9*, *MMP-2* และ *cyclin D1* ลดลง โดยสรุป เทคโนโลยีพลาสมาเย็นมีศักยภาพในการเพิ่มปริมาณสารชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพให้แก่พืชสมุนไพรท้องถิ่น และไมโครกรีนผักเขียวน้อยและผักขี้หูด อายุ 14 และ 21 วัน มีศักยภาพในการเป็นอาหารต้านมะเร็ง

คำสำคัญ: ผักเขียวน้อย ผักขี้หูด ต้านมะเร็ง พลาสมาเย็น อะพอพโตซิส

Abstract

Recently, cold plasma was found to be a new technology to increase the cancer-fighting activity of 7-day-old mustard green and rat-tailed radish microgreens; however, the different stages of microgreens on bioactive compounds and bioactivity have not been studied. Therefore, this research aimed to study growth, type and amount of glucosinolates, isothiocyanates, all phenolic compounds, all flavonoid compounds, antioxidant activity and cytotoxic effects on breast cancer MCF-7 cells, HepG2 liver cancer cells, HeLa cervical cancer cells, A549 lung cancer cells and HT-29 colon cancer cells at 14, 21 and 28 days of age after cold plasma seed priming (mustard greens treated at 19 kV for 5 min and rat-tailed radish at 21 kV for 5 min).

From the results in general, cold plasma had no effect on growth (the stem length, fresh weight and dry weight) of the two microgreens compared to the control (those from untreated seeds) at the same age. However, cold plasma increased the glucosinolate content, isothiocyanate content, all phenolic compounds, all flavonoid compounds and biological activity significantly compared to controls of the same age. Mustard green contained two types of glucosinolates, sinigrin and gluconapin, and two isothiocyanates, namely allele isothiocyanates and 3-butenyl isothiocyanates. Rat-tailed radish contained only one type of glucoraphasatin and raphasatin. Overall, bioactive contents and bioactivities were highest at the age between 14 and 21 days, with most of the plasma trials significantly higher than the controls of the same age. Rat-tailed radish had a higher content of biological substances and bioactivity than mustard green.

The sensitivity of cancer cells to the cytotoxicity of mustard green extract was ranked in the descending order as follows: HeLa > HepG2 > MCF-7 > A549 > HT-29 with an IC_{50} value of 16-78 µg/ml. For rat-tailed radish, it was ranked HeLa > MCF-7 > A549 > HT-29 > HepG2 with an IC_{50} value of 12-60 µg/ml, indicating strong to very strong level of anticancer activity. The plasma trial had significantly higher anticancer activity than the control at same age. Rat-tailed radish had a better anti-cancer effect than mustard green.

As for its molecular mechanisms, both microgreen extracts were able to inhibit the survival and spread of cancer cells by inducing apoptosis via caspase cascade pathway, increasing expression of *Bax*, *caspase-3* and *p21* genes and also cytochrome c, caspase-3 and p21 proteins, while decreasing *Bcl-2*, *MMP-9*, *MMP-2* and *cyclin D1* genes. Cold plasma technology has the potential to increase the bioactive content and bioactivity of local medicinal plants. Rat-tailed radish and mustard green at 14 and 21 days of age have potential as anti-cancer foods.

Keywords: mustard green, rat-tailed radish, anti-cancer, cold plasma, apoptosis