



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

เรื่อง

ผลของสารสกัดจากหว่าตต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ในหลอด
ทดลอง และฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ
Anti-cholangiocarcinoma and antioxidant effects of
Syzygium cumini (L.) Skeels in vitro

หัวหน้าโครงการ

นางสาวรัชฎาวรรณ อรรคนิมาตย์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร

2560

ได้รับทุนช่วยเหลือหรือสนับสนุนการศึกษาวิจัยจาก
กองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผล

หว่า มีการนำไปใช้ในการรักษาทางการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกมากมาย จากหลายการศึกษาพบว่า หว่า มีฤทธิ์ในการเป็น antioxidant, antidiabetic, antiallergic, antipyretic, antiulcer, anti-inflammation, anti-bacteria, antifertility, antihelminthic (McCrod et al. 1976; Bansal et al. 1981; Namba et al. 1985; Mukherjee et al. 1998; Rajasekaran et al. 1998; Prince et al. 2004; Kumar et al. 2008; Farswan et al. 2009; Sharma et al. 2011) จากอดีตจนถึงปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาลูกและใบของหว่า ในการต้านมะเร็งอย่างชัดเจน ดังนั้นทีมวิจัยจึงมีความสนใจการใช้การศึกษาลูกและใบของหว่า ในการป้องกันและรักษามะเร็งเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งผลการศึกษาพบว่าจากการนำใบหว่า 1700 กรัม เนื้อผลสุกหว่า 4200 กรัม และเมล็ดหว่า 2100 กรัม หมักด้วย 95 % ethanol และนำไประเหยแห้ง จะได้น้ำหนักสารสกัดและ % yield ดังตารางที่ 2 โดยเมล็ดหว่าได้น้ำหนักสารสกัด และมี % yield มากที่สุดคือ 3.57 % ใบหว่า 3.52 % และเนื้อผลสุกมีเปอร์เซ็นต์น้อยที่สุดคือ 1.74 % และการแยกสารพิสูจนในหว่า ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography พบว่าทุกส่วนของหว่า มีสาร quercetin

การศึกษา % free radical inhibition ของสารสกัดจากใบหว่าที่ความเข้มข้น 10, 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 µg/ml เนื้อผลสุกหว่าที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 mg/ml และเมล็ดของหว่าที่ความเข้มข้น 0.5, 1.2 และ 4 mg/ml นำมาทดสอบ วัดที่ความยาวคลื่น 540 nm ผลการทดสอบแสดงดังภาพ ที่ 7, 8, และ 9 พบว่า ความสามารถของสารสกัดของใบ เนื้อผลสุก และเมล็ดของหว่า ที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ 50% (IC50) ของ ใบหว่า เนื้อผลสุก และเมล็ด มีค่า IC50 = 54.43, 666.35 และ 904.44 µg/ml ตามลำดับ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox โดยพบว่าสารสกัดจากใบหว่า มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยสอดคล้องกับหลากหลายการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจากสมุนไพร เช่น *Artemisia campestris* (Venkatachalam et al. 2016), *Acalypha indica*, *Anthyllis vulneraria*, *Fuchsia sp.*, *Galium mollugo* (Csepregi et al. 2016), *Veronica beccabunga*, *Tragopogon porrifolius* (Al-Rimawi et al. 2016), *Laserpitium zernyi* (Popović et al. 2016) เป็นต้น

การศึกษาพิษของสาร quercetin ที่พบในหว่าในเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติ พบว่าสาร quercetin ที่เป็นองค์ประกอบที่พบในหว่านั้น ไม่เป็นพิษกับเซลล์ปกติ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ IC50 ถึง 64 เท่า การศึกษาความเป็นพิษของ สาร Quercetin และหว่าต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีคนในหลอดทดลอง (cell viability of cholangiocarcinoma cells) พบว่า Quercetin มีค่า IC50 ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1.94 ± 0.07 µg/ml สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ 50%

การศึกษาผลของใบหว่า ต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีคนในหลอดทดลอง เปรียบเทียบกับยาต้านมะเร็งชนิดอื่นๆ โดยใช้ เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีคน และการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดใบที่ความเข้มข้นต่างๆ และยาต้านมะเร็งจำนวน 4 ชนิด คือ gemcitabine, 5-Fluorouracil, sunitinib malate และ imatinib mesylate นั้นพบว่า การมีชีวิตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-M214 cells ภายหลังจากการทดสอบด้วยสารสกัดหว่า สาร

Quercetin และค่า IC50 ของยาต้านมะเร็ง gemcitabine, 5-Fluorouracil, sunitinib malate, imatinib mesylate เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตายลงครึ่งหนึ่ง (Ic50) พบว่า สาร quercetin ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในใบหว่ามีความสามารถในการยับยั้งหรือฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีกว่า ยา Sunitinib malate และ Imatinib mesylate แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่ายา Gemcitabine และ 5-Fluorouracil ซึ่งสอดคล้องกับหลากหลายการศึกษาของสมุนไพรต้านมะเร็ง เช่น *Selaginella doederleinii* ต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (Yao et al. 2017) *Punica granatum* ต่อการยับยั้งมะเร็งหลายชนิดทั้งในสัตว์ทดลอง และการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งทางคลินิก (Panth et al. 2017) *Rubus corchorifolius* ต่อการต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ (Chen et al. 2017) เป็นต้น

การศึกษาผลของสารสำคัญในใบหว่า ต่อการ migration ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีคนในหลอดทดลอง โดยวิธีการ wound healing พบว่า เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของกลุ่ม control มีการเพิ่มจำนวนและ migrate เข้ามาปิดแผลภายในเวลา 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ส่วนเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของกลุ่มที่ได้รับการทดสอบด้วยสาร quercetin ที่ความเข้มข้น 1.3, 2.2 และ 3.5 μM นั้นสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนและการ migrate ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้แบบ dose dependent การศึกษาผลของสารสำคัญในใบหว่า ต่อ cell cycle arrest และ apoptosis ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีคนในหลอดทดลอง

ในการแบ่งตัวของเซลล์ เซลล์จะเข้าสู่วัฏจักรการแบ่งตัวของเซลล์ (cell cycle) ประกอบไปด้วย phases ต่างๆ ดังนี้ G₁, S, G₂ และ M phase ในระยะที่มีการถ่ายแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) จะพบในระยะ S (synthesis) phase ส่วนการอัดแน่นของโครโมโซมและการแบ่งเซลล์ (cell division หรือ cytokinesis) จะพบในระยะ M phase (mitosis) การศึกษาฤทธิ์ของสารสำคัญจากสมุนไพรดังกล่าว ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี พบว่าสาร quercetin ที่สกัดได้จากใบหว่า ที่ความเข้มข้น 1.3, 2.2 และ 3.5 μM นั้น ทำให้เกิด cell cycle arrest ที่ระยะ G₀/G₁ phase ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-M214 โดยมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในระยะนี้ จาก 62.63% เป็น 73.46%, 79.03% และ 79.43% ตามลำดับ เป็นผลให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในระยะ S phase ลดลง ซึ่งมีการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรต่อการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ตามวัฏจักรต่างๆ เช่น *Anacyclus pyrethrum* ซึ่งสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของ Colorectal cancer ในระยะ G₁ (Mohammadi et al. 2016) สารสกัดเมล็ด *Brucea javanica* Induces สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดในระยะ G₀/G₁ ได้ (Wang et al. 2016) และ *Cyperus amuricus* สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งปอดในระยะ G₀/G₁ (Pham et al. 2016) ได้เช่นเดียวกัน

Apoptosis เป็นขบวนการตายที่ถูกควบคุมโดยยีน มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและรักษาสมดุลในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ การศึกษาเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-M214 ที่ทดสอบด้วยสาร quercetin ที่สกัดได้จากใบหว่าที่ความเข้มข้น 1.3, 2.2 และ 3.5 μM โดยวิเคราะห์ผลด้วย flow cytometry พบว่าเซลล์มะเร็งของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตายแบบ apoptosis เพิ่มขึ้นได้แบบ dose dependent (23.53%, 31.23% และ 37.83%) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (15.23%)

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากใบหว่า ซึ่งพบสาร quercetin นั้นสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ดีที่สุดที่ 24 ชั่วโมง ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด ทำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

แบบ apoptosis และไม่เป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคน ซึ่งในอนาคตสามารถพัฒนาสารสกัดจากหว่า ในรูปแบบที่จะนำมาใช้เป็นยาต้านมะเร็งในอนาคตได้



เอกสารอ้างอิง