



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นโทงเทง

Biological Activity of Hogweed

นางสาวธนาวดี ก่ออานันต์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย (เงินรายได้) ประจำปี 2558

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



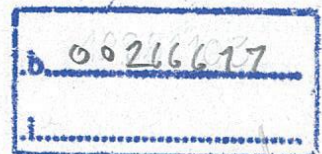
รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นโทงเทง

Biological Activity of Hogweed

นางสาวรนาวดี ก่ออานันต์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย (เงินรายได้) ประจำปี 2558



คณะวิทยาศาสตร์

เลขหมู่ 147261
เลขทะเบียน 13 0.0. 2560

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 นางสาวธนาวดี ก่ออานันต์ สังกัด คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

บทคัดย่อภาษาไทย

การศึกษานี้ได้สนใจที่จะทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญจากส่วนของผลจากต้นโทงเทง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งและการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามิดีเนสที่ได้จากไวรัส H5N1 จากการสกัดจากส่วนผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ด้วยเครื่องอัลตราโซนิคเป็นเวลา 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 ug/mL และสารสกัดยังสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามิดีเนสจากไวรัส H5N1 ได้ดี โดยมีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 78.00 ± 30.02 ug/mL

คำสำคัญ: ต้นโทงเทง, เซลล์มะเร็งและ เอนไซม์นิวรามิดีเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นโทงเทง ครั้งนี้ ได้รับแหล่งเงินทุน ทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภท เงินอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้) ประจำปี พ.ศ. 2558 ซึ่งได้ข้อมูลการทดสอบเบื้องต้นมาจากการการสกัด สารสำคัญจากส่วนต่างของ ต้นโทงเทง (*Physalis angulata* L.) ที่สกัดด้วยเครื่องชอกห์เลต จากโครงการ พิเศษเรื่อง “ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โปรตีโอไลติกจากโทงเทง (antimicrobial, antioxidants and antiproteolytic activity of from *Physalis angulata* L.)” ผู้วิจัย ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาคชีววิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำสั่งสอนตลอดจนเป็นที่ปรึกษาที่ดี ขอขอบคุณนักศึกษาโครงการพิเศษนี้ ได้แก่ นางสาวศิริพัชร อักโขสุวรรณ, นางสาวศิริพร บำเพ็ญผลและนาย ทิชาภัทร เดชนรสิงห์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก เกี่ยวอุปกรณ์ เครื่องมือและเชื้อแบคทีเรียในการวิจัย ทำให้โครงการครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ธนาวดี ก่ออานันต์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ฅ
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 ฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นโง้งเทง.....	6
2.3.1 การยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัว.....	6
2.3.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน.....	7
2.3.3 ฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง.....	10
2.3.4 ฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ.....	13
2.4 สารเคมีจากต้นโง้งเทง.....	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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

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



สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
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);	
สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสปีชีส์ <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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ของสารสกัดจากตัวทำละลายอะซิโตนของผลโทงเทงเปรียบเทียบกับ
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)	สารกระตุ้นเซลล์เยื่อผิวเส้นเลือด
HO-1	เฮนไซม์ heme oxygenase-1
HSP70	heat shock protein 70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการปลูกพืชไร่ พืชสวน และทำนาเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีวัชพืชที่เกิดแทรกอยู่กับพืชผลที่ปลูก เกษตรกรต้องมีการกำจัดวัชพืช ซึ่งการกำจัดวัชพืชอาจมีการใช้สารเคมีหรือการฝัง ซึ่งการใช้สารเคมีที่ใช้ อาจทำให้เกิดสารพิษตกค้างในพืชผลทางการเกษตร

ปัจจุบันเริ่มมีการสนใจศึกษาการใช้ประโยชน์จากวัชพืชหลายชนิด เช่น ต้นโง้งโง้ง ซึ่งเป็นวัชพืชชนิดหนึ่งที่เป็นสมุนไพร พบได้มากในสวน พุ่มนาหรือหน้าดินเปิดใหม่ก่อนที่จะมีการเพาะปลูก มีการนำส่วนต่างๆ ของต้นโง้งโง้งมาต้มใช้เป็นการรักษาโรค ผลอ่อนและยอดอ่อน ใช้ต้มเป็นผักจิ้ม น้ำพริก หรือใส่ในแกงอ่อม และแกงเลียง มีรสขม แก้ท้องน้ำลายอักเสบ คออักเสบ ร้อนใน กระจายน้ำ ทาแก้แผลเปื่อย ผลโง้งโง้งสามารถนำมารับประทานได้ โง้งโง้งสายพันธุ์ต่างประเทศที่มีผลขนาดใหญ่ มีรสหวานและหอม เป็นที่นิยมบริโภค จากการวิจัยพบว่าต้นโง้งโง้ง สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ช่วยป้องกันสารกันเลือดและเสริมภูมิคุ้มกันได้ สารสกัดของต้นโง้งโง้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง สารเคมี physalin F ที่พบเป็นองค์ประกอบในต้นโง้งโง้งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งที่หน้าอก T-47d ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งในมนุษย์ [1] และสารสกัดจากต้นโง้งโง้ง โดยใช้สารเอทานอล เมทานอล และ คลอโรฟอร์ม จากใบและแคลลัส ของต้นโง้งโง้งยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น *Bacillus pumillus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* และยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium solani* และ *Fusarium oxysporum* ได้อีกด้วย [2] และพบว่าใบของโง้งโง้งมีฤทธิ์ในการรักษาโรคเบาหวานในหนูทดลอง [3]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นโทงเทงแล้วยังสามารถช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับพืชที่มีการเจริญเติบโตมากในพืชสวนไร่เนาของเกษตรกร อาจช่วยลดการใช้สารเคมีที่ทำให้ต้นทุนการผลิตผลทางการเกษตรสูง และอาจมีสารพิษตกค้างได้อีกด้วย และในปัจจุบันยังพบว่ายังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นโทงเทง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โปรตีโอไลติกและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคอีกหลายชนิด ซึ่งเป็นเหตุจูงใจในการศึกษานี้ เพื่อช่วยส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากต้นโทงเทงทางเภสัชวิทยา

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ช่วยส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืช
2. เพิ่มคุณค่าทางเภสัชวิทยาของพืช

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

นำส่วนต่าง ๆ ของต้นโทงเทง ได้แก่ ใบ ลำต้น ผล และราก มาสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก แล้วนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืช และฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง เป็นต้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืช
2. ส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากต้นโทงเทง มาใช้ให้เป็นประโยชน์ทางเภสัชวิทยา

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิด ทฤษฎี

ต้นโทงเทงมีชื่อสามัญว่า cutleaf groundcherry หรือ husk potato มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Physalis angulata* L. พืชชนิดนี้ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae โทงเทงเป็นพืชในตระกูลเดียวกับมะเขือเทศ มีชื่อท้องถิ่นหลายชื่อ ได้แก่ โคมจีน, โคมญี่ปุ่น, มะก่องข้าม, ปิงเป้ง (หนองคาย), ปุงปิง (ปัตตานี), หล้าถงถง, หล้าต้อมต้อก, บาดต้อมต้อก, บาดต้อมต้อก (เชียงใหม่), ขาผ่อเหมาะ (กะเหรี่ยงแดง) อนุกรมวิธาน (taxonomy) ของต้นโทงเทง แสดงได้ดังนี้

Domain: Eukaryota

Kingdom: Plantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Solanales

Family: Solanaceae

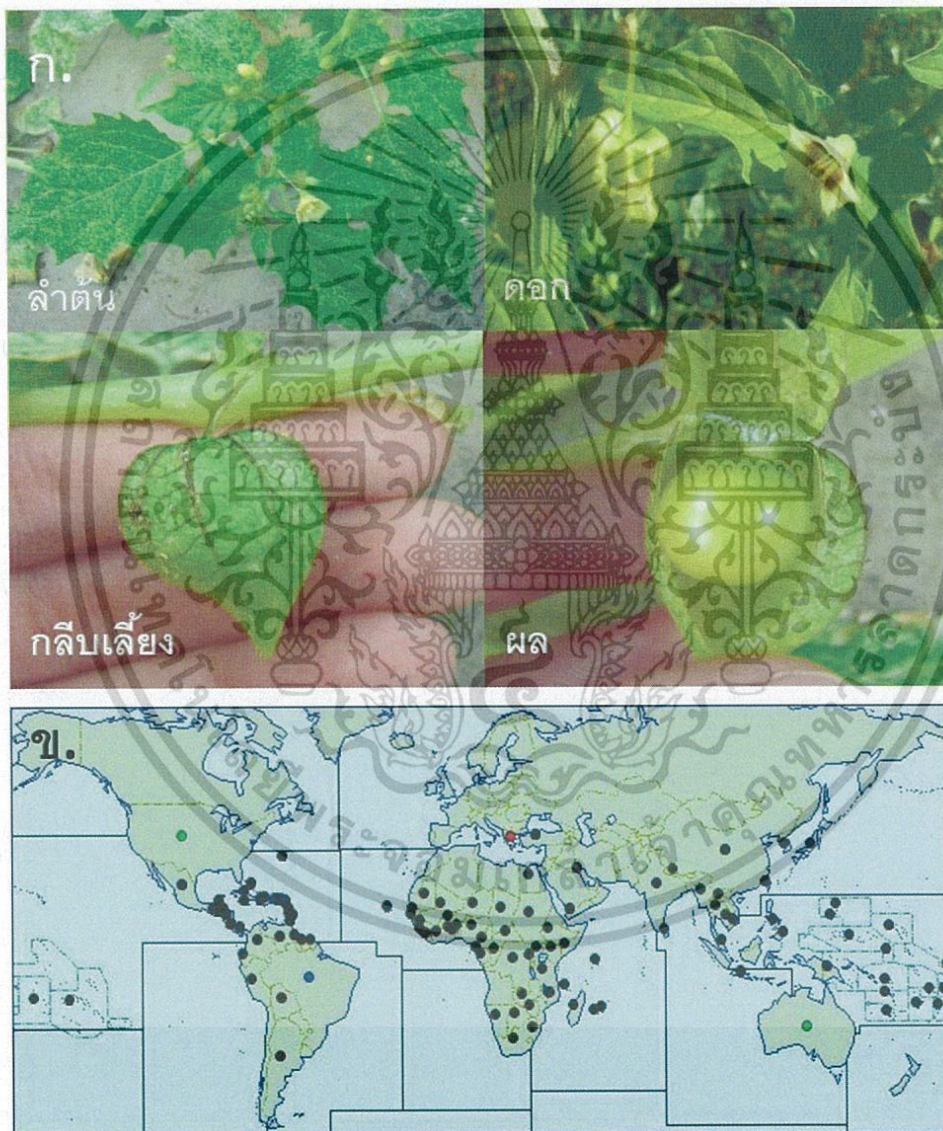
Genus: *Physalis*

Species: *Physalis angulata*

โทงเทงเป็นพืชล้มลุก มีความสูงประมาณ 30-50 ซม. กิ่งอ่อนสีเขียว มีสันเป็นเหลี่ยมตื้นๆ ใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่ถึงรูปรี มีความกว้าง 2-4 ซม. ยาวประมาณ 3-6 ซม. โคนใบมน ปลายใบแหลมหรือเป็นติ่ง ขอบใบเรียบหรือจักเล็กน้อย ดอกสีเหลืองอ่อน ตรงกลางสีน้ำตาลแกมเหลือง ออกเป็นช่อสั้นตามซอกใบ ดอกบาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด 4-6 มม. กลีบดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 แฉก เกสรผู้ 5 อัน ผลทรงกลมคล้ายผลมะเขือเทศ ผิวเรียบมัน ขนาด 12 มม. มีกลีบรองดอกแผ่ขยายหุ้มผล ลักษณะเป็นแผ่นบางเชื่อมกันเป็นมุมตามกลีบ เมล็ดจำนวนมาก รูปกลมแบน ขนาด 2 มม. พบในจีน ได้หัวน้ำ ประเทศไทยพบทางภาคเหนือ บริเวณป่าเปิดและที่ชุ่มชื้นทั่วไป ที่ระดับความสูงไม่เกิน 1,000 ม. ออกดอกและติดผลช่วงเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม ผลสุกรับประทานได้ มีรสหวาน



ภาพที่ 2.1 ก. ลักษณะลำต้น, ดอกและผล, และกลีบเลี้ยงและผลของต้นโทงเทง

ข. การกระจายพันธุ์ของต้นโทงเทงบริเวณภูมิภาคต่าง ๆ [4]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 ลักษณะผลโงเทงตากแห้ง เก็บมาจาก อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ

2.2 สรรพคุณทางยา

สามารถใช้ประโยชน์จากต้นโงเทงได้ทุกส่วน ได้แก่ ต้น, ผล, ราก, ใบ และเมล็ด ต้นโงเทงเมื่อนำมาโขลกกับเหล้าจะช่วยรักษาแผลมีหนอง แผล ไอบีเสมหะ หอบหืด รักษาอาการอักเสบของไขข้อ หลอดลม รักษาอาการฟกช้ำ แก้กษหายน้ำ เป็นยาระบายและช่วยขับปัสสาวะ ส่วนของผลโงเทง ช่วยรักษาอาการ คออักเสบ ร้อนใน กระหายน้ำ แผลเน่าเปื่อย ส่วนของเมล็ด ช่วยบรรเทาอาการไข้ ร้อนใน ขับปัสสาวะ รักษาอาการบวมน้ำและเป็นยาระบาย

ส่วนของใบ ช่วยรักษาอาการปวดศีรษะ การอักเสบของกระเพาะปัสสาวะอักเสบและตับ ส่วนของราก ใช้ขับพยาธิและรักษาโรคเบาหวาน โดยต้มส่วนของรากกับน้ำรับประทาน ส่วนของเมล็ด ใช้แก้ไข้ ร้อนใน ปัสสาวะเป็นเลือด ส่วนของต้น จะช่วยขับปัสสาวะ แก้เจ็บคอ แก้ไอ แก้ต่อมทอนซิลอักเสบ แก้ไข้ แก้ร้อนใน และแก้พิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นโงเทง

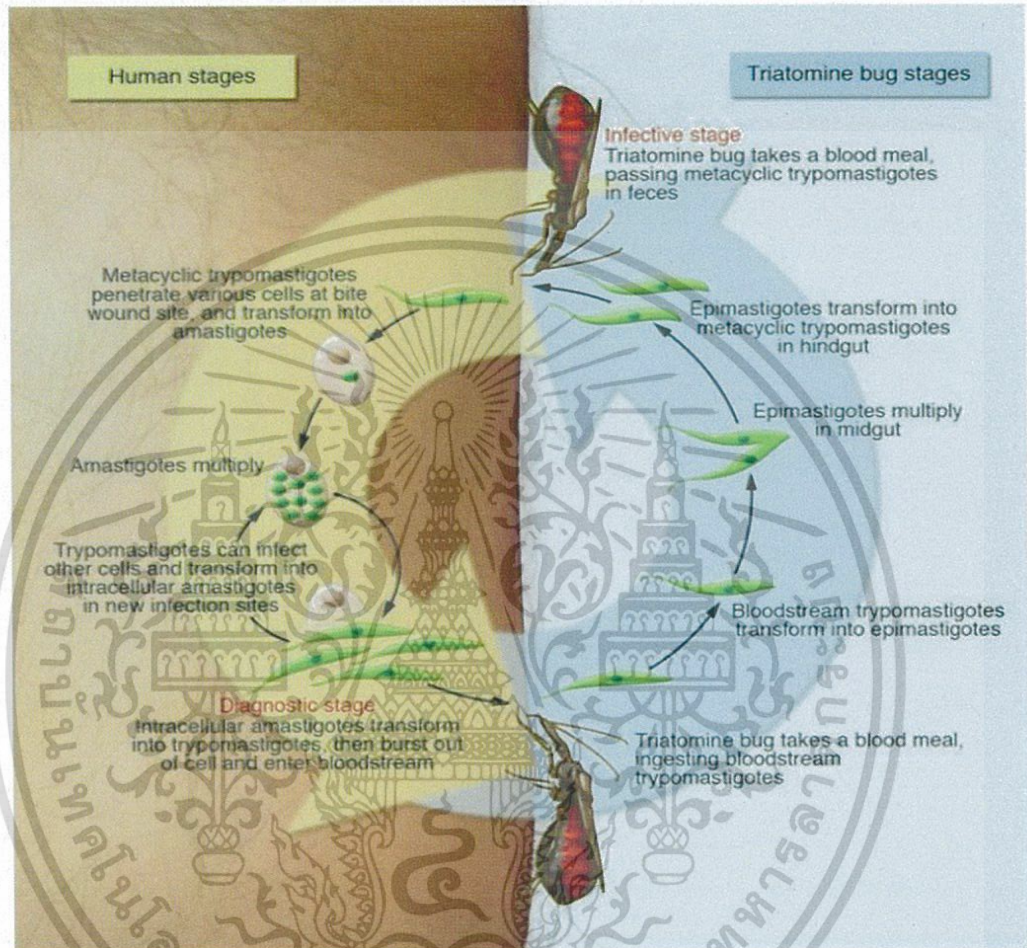
2.3.1 การยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัว

ต้นโงเทง (*Physalis angulata*) มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของโปรโตซัวลิสมาเนีย (*Leishmania amazonensis*) เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากรากที่สกัดด้วยน้ำ มีผลต่อการเจริญทั้งระยะ promastigotes และระยะ amastigote ของโปรโตซัวชนิดนี้ และสารสกัดยังทำให้ปริมาณสารอนุมูลอิสระชนิดที่มีธาตุออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) มีปริมาณมากขึ้น ทำให้เซลล์ถูกทำลายได้ง่ายขึ้น ทำให้ปริมาณของไฮโดรพลาสซึมเพิ่มปริมาณมากขึ้น ปริมาณแควิวโกลเพิ่มปริมาณมากขึ้น และเซลล์มีระบบเส้นใยภายในเซลล์เปลี่ยนแปลงไป [5]

สารสกัดด้วยเอทานอลจากต้นโงเทง ที่สกัดด้วยเอทานอล อุณหภูมิ 50°C-60°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเจริญของโปรโตซัว *Trypanosoma cruzi* ในระยะต่าง ๆ ได้ เมื่อทดสอบ ด้วยวิธี mouse peritoneal macrophages ทดสอบการเป็นพิษต่อโปรโตซัวในระยะต่าง ๆ ได้แก่ epimastigote ระยะ trypomastigote และระยะ amastigote forms วัดการตายของเซลล์โดย flow cytometry ย้อมสีด้วย annexin V และ propidium iodide พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของโปรโตซัว ของเซลล์ *T. cruzi* สายพันธุ์ Y ในระยะ epimastigote มีค่า IC₅₀ ประมาณ 2.9 ± 0.1 µg/mL และลดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในระยะ trypomastigote ได้ มีค่า EC₅₀ ประมาณ 1.7 ± 0.5 µg/mL และยังเสริมฤทธิ์ได้ดีกับยาเบนนิดาโซล (benznidazole) กับสารสกัดพบว่าการยับยั้งเกิดได้ดีขึ้นโดยมีค่า EC₅₀ ประมาณ 0.8 ± 0.07 µg/mL และมีค่า EC₉₀ ประมาณ 0.83 ± 0.1 µg/mL [6] การติดเชื้อโปรโตซัว *T. cruzi* มีความสำคัญที่ต้องระวัง เมื่อเข้าสู่ร่างกายคนโดยมีแมลง ที่พาหะของโปรโตซัว *T. cruzi* ชนิดนี้อาศัยอยู่ในลำไส้ของแมลง เมื่อแมลงกัดผู้ป่วยจะถ่ายของเสียลงบนผิวหนังของผู้ป่วย ตัวอ่อนระยะ metacyclic trypanosome เข้าสู่ผิวหนังตรง รอยกัดและเชื้อจะลามเข้าสู่บริเวณอื่น ๆ ก่อนจะเปลี่ยนเป็นระยะ amastigote มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ ต่อไป เมื่อแมลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดนี้มากินเลือดคนที่มีโปรโตซัวอยู่ในกระแสเลือด จะทำให้แมลงติดเชื้อต่อไปอีก เมื่อแมลงนี้ไปกัดคนอื่นจะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโปรโตซัว *T. cruzi* เพิ่มมากขึ้น ดังภาพที่ 2.3 [7]



ภาพที่ 2.3 การติดเชื้อ *T. cruzi* จากพาหะที่เป็นยุงใน วงศ์ย่อย Triatominae ระยะ trypanomastigotes-amastigotes ในคน และในระยะ trypanomastigotes-epimastigotes ในแมลง [7]

2.3.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ DPPH scavenging, superoxide, nitric oxide, hydrogen peroxide และ hydroxyl radical มีค่าแตกต่างกันไปแต่ส่วนของพีชโดยพบว่าส่วนของผลและใบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุด กว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากสารสกัดที่ได้จากลำต้นและราก โดยพบว่าส่วนผลและใบจะมีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากกว่าส่วนอื่น ๆ ที่นำมาทดสอบ แสดงในตารางที่ 2.1 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากส่วนต่าง ๆ ของต้นโหงเทง [8]

	DPPH			Super Oxide			Nitric Oxide			H ₂ O ₂			Hydroxyl Radical		
	*100	*200	*300	*100	*200	*300	*100	*200	*300	*100	*200	*300	*100	*200	*300
Leaves	0.2 ± 0.11'	0.35 ± 0.20'	0.25 ± 0.14'	0.45 ± 0.26'	0.25 ± 0.14'	0.3 ± 0.17'	0.25 ± 0.14'	0.34 ± 0.2'	0.17 ± 0.1'	0.28 ± 0.16'	0.45 ± 0.26'	0.30 ± 0.17'	0.20 ± 0.12'	0.05 ± 0.03'	0.36 ± 0.20'
Stem	0.1 ± 0.08'	0.3 ± 0.2'	0.1 ± 0.06'	0.37 ± 0.21'	0.51 ± 0.2'	0.47 ± 0.27'	0.20 ± 0.12'	0.28 ± 0.16'	0.32 ± 0.18'	0.15 ± 0.08'	0.1 ± 0.05'	0.43 ± 0.25'	0.47 ± 0.27'	0.51 ± 0.29'	0.56 ± 0.32'
Fruits	0.41 ± 0.24'	0.2 ± 0.1'	0.43 ± 0.25'	0.4 ± 0.23'	0.15 ± 0.08'	0.36 ± 0.20'	0.1 ± 0.05'	0.45 ± 0.26'	0.50 ± 0.29'	0.17 ± 0.1'	0.37 ± 0.21'	0.11 ± 0.06'	0.20 ± 0.12'	0.23 ± 0.13'	0.34 ± 0.2'
Roots	0.40 ± 0.23'	0.1 ± 0.05'	0.49 ± 0.28'	0.51 ± 0.29'	0.1 ± 0.05'	0.2 ± 0.11'	0.26 ± 0.15'	0.23 ± 0.11'	0.35 ± 0.20'	0.05 ± 0.03'	0.20 ± 0.12'	0.1 ± 0.005'	0.41 ± 0.24'	0.52 ± 0.30'	0.55 ± 0.31'

Values are mean±S.E.M. n=3

*significance is set at p>0.5.

Conc µg/ml

สารสกัดจากดอกโหงเทงช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่สำคัญในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด การทดลองป้อนสารสกัดของผลของพริกทาง (*Piper cubeba*) สารสกัดของดอกของต้นโหงเทง (*Physalis angulate*) ดอกกุหลาบ (*Rosa hybrida*) นำมาทดสอบปฏิกิริยา lipid peroxidation ระดับความเข้มข้น 0.2 g/kg ของน้ำหนักตัว เมื่อใช้น้ำเกลือเป็นคอนโทรล ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD), กิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส, ปริมาณของ thiobarbituric acid reactive substance (TBARS), ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride, TG) และวัดระดับคลอเลสเทอรอลในพลาสมา พบว่าสารสกัดจากผลพริกทางกับดอกกุหลาบช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส ดีกว่าการใช้สารสกัดจากดอกของต้นโหงเทง [9]

ปริมาณสารอาหารในส่วนผลของพืชตัวอย่างในจีนัส *Physalis* มีองค์ประกอบหลักสำคัญ ได้แก่ ไฟเบอร์ โปรตีน แร่ น้ำตาลที่ละลายได้ ปริมาณของแข็งทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบกับมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชที่มีลักษณะของผลใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 2.4) จะพบว่าปริมาณแร่ โปรตีน และปริมาณน้ำตาล ไม่แตกต่างกับพืชในจีนัส *Physalis* มากนัก (ตารางที่ 2.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น. ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 ลักษณะของลำต้นและผลของพืชในจีนัส *Physalis* ได้แก่ *P. pubescens* var *grisea* (A); *P. chenopodifolia* (B), *P. acutifolia* (C); *P. pubescens* var. *pubescens* (D) [10]

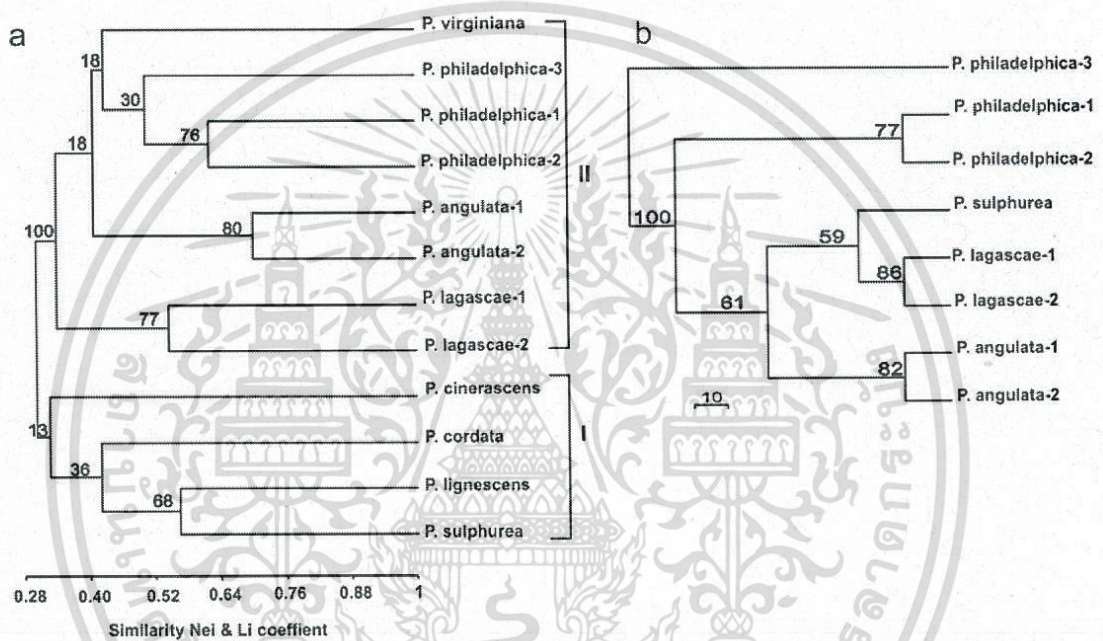
ตารางที่ 2.2 สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพและสารอาหารจากส่วนของผลของพืชตัวอย่างในจีนัส *Physalis* เปรียบเทียบกับมะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) [10]

สปีชีส์	ชนิดย่อย (Vareity)	ไฟเบอร์ (%)	เส้นใย (%)	โปรตีน (%)	แร่ธาตุ (%)	น้ำตาล (%)	ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	ของแข็งที่ละลายได้	เอกสารอ้างอิง
<i>Physalis acutifolia</i>	ND	1.45	0.50	1.0	0.39	2.45	4.26	7.43	[10]
<i>Physalis chenopodifolia</i>	ND	1.60	0.44	0.93	0.42	2.41	4.11	10.88	
<i>Physalis pubescens</i>	grisea	1.12	0.35	0.52	0.19	3.62	ND	10.20	
	pubescens	1.38	0.35	0.28	0.28	3.07	4.8	7.48	
<i>Physalis angulata</i>	ND	1.74	0.45	0.96	0.23	2.42	4.22	8.50	
<i>Physalis philadelphica</i>	rendidora	ND	0.46-0.50	0.73-0.90	ND	2.68-3.31	3.90-4.01	ND	[11]
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.10-4.56	5.10-9.20	[12]
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.78-4.20	5.60-6.60	[13]
<i>Physalis pubescens</i>	grisea	ND	ND	1.02	ND	ND	3.60	7.50	[14]
<i>Physalis peruviana</i>	ND	0.15	0.24	0.49	0.23	4.68	3.6	14	[15]
	ND	0.11-1.34	0.19-0.28	0.08-0.52	0-0.14	3.02-5.39	3.39-3.67	13.73-14.30	[11]
	ND	1.35	0.28	0.04-0.08	0.04-0.06	1.35	3.80-3.90	*	[16]
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.10-4.90	11.60-13.50	[17]
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.41-3.85	10.86-15.30	[18]
มะเขือเทศ (<i>Solanum lycopersicum</i>)	N. Yorker	ND	0.56	0.69-0.85	ND	2.90-3.60	ND	ND	[19]

ND คือ not determine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจะช่วยยืนยันชนิดพันธุ์ที่ถูกต้องได้ เช่น การทดลองของ Vargas-Ponce และคณะ (2011)[20] ได้แสดงแผนผังสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืช *Physalis angulata* กับพืชในจีนัส *Physalis* สปีชีส์อื่น ๆ ที่มีสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน เช่น *Physalis lagascae* และ ต้นโทมาทิลโล (*Physalis philadelphica*) เป็นต้น (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชในจีนัส *Physalis* species (a); สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสปีชีส์ *angulata* (b) คำนวณความเชื่อมั่นด้วยวิธีทางบูตสเตรบ [20]

2.3.3 กุทรียับยั้งมะเร็ง

สารสกัดทั้งต้นของโทงเทงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตต เป็นพืชต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก ชนิดสะสมามัส (human oral squamous carcinoma, HSC-3) ในระยะลุกลามแพร่กระจาย (metastatic) และในระยะการสร้างเส้นเลือดใหม่ (angiogenics) และเป็นพืชต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดสายสะดือในคน (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) เมื่อใช้สิ่งสกัดความเข้มข้นระหว่าง 5–15 $\mu\text{g/mL}$

สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ matrix metalloproteinase (MMP)-9 ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ นอกจากนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

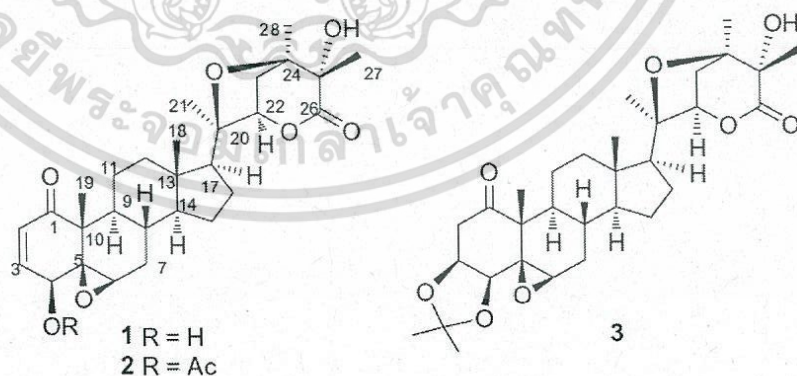
matrix metalloproteinase (MMP)-2 และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ urokinase plasminogen activator (u-PA) ของเซลล์มะเร็งช่องปาก HSC-3 ทำให้พบว่าปริมาณโปรตีน MMP-2 และ u-PA ในเซลล์มะเร็ง HSC-3 ลดลง การทดสอบด้วยวิธี Western blotting นอกจากนี้สารสกัดจากต้นโทงเทงความเข้มข้นประมาณ 5–15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ยังเป็นพิษต่อการเจริญของสารกระตุ้นเซลล์เยื่อหุ้มเส้นเลือด (vascular endothelial growth factor, VEGF) ซึ่งสำคัญต่อเส้นเลือดหล่อเลี้ยงเซลล์มะเร็งอีกด้วย [21]

สารสกัดจากต้นโทงเทงช่วยเพิ่มกระบวนการตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิสของมะเร็งช่องปาก (HSC-3) จากการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) สืบเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะของนิวเคลียสของเซลล์, การรวมของเยื่อหุ้มเซลล์และการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-9 ซึ่งสารสกัดจากต้นโทงเทงจะทำให้เกิดสมดุลของสารต้านอนุมูลอิสระ ที่มีธาตุออกซิเจนเป็นองค์ประกอบและทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอะพอพโตซิสและทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น เช่น เอนไซม์ และ caspase-4 เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้การพรีทรีทเมนต์เซลล์มะเร็งช่องปากด้วยกลูต้าไทโอนหรือการพรีทรีทเมนต์ด้วย เอน-อะเซติลซิสเทอีน ยังช่วยเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากต้นโทงเทงอย่างมีนัยสำคัญ [22]

สารสกัดทั้งต้นจากต้นโทงด้วยเอธิลอะซิเตตยับยั้งเซลล์มะเร็งตับได้ดีกว่าสารสกัดจากน้ำ ทดสอบในเซลล์ตัวอย่าง ได้แก่ เซลล์มะเร็งตับ Hep G2, เซลล์ตับ Hep 3B และ เซลล์ตับ PLC/PRF/5 ได้ดีกว่า การสกัดด้วยน้ำมีค่า IC_{50} การยับยั้งเซลล์มะเร็งตับ Hep G2 ของสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตตมีค่าประมาณ $10.67 \pm 0.20 \text{ ug}/\text{mL}$ ซึ่งมีค่าการยับยั้งเซลล์มะเร็งตับ Hep G2 ดีกว่าการยับยั้งเซลล์ PLC/PRF/5 และเซลล์ Hep 3B ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากต้นโทงเทงด้วยตัวทำละลายที่เป็นน้ำจะมีค่าการ IC_{50} ของยับยั้งเซลล์มะเร็งตับประมาณ $44.19 \pm 0.52 \text{ ug}/\text{mL}$ ซึ่งมีค่าการยับยั้ง ดีกว่าการยับยั้งเซลล์ PLC/PRF/5 และเซลล์ Hep 3B เช่นกัน [23]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maldonado และคณะ (2015)[24] ได้แยกสารบริสุทธิ์จากส่วนเหนือดินจากต้นโทงเทงได้หลายชนิด เช่น physangulide B, physangulide-acetonide และ 4-O-acetylphysangulide B ที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีใกล้เคียงกับการยับยั้งของยาต้านมะเร็งแคมปโทเธซิน (camptothecin) โดยสารบริสุทธิ์ physangulide B ที่แยกได้ มีค่า IC_{50} การยับยั้งเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (homosapiens prostate, PC-3) ประมาณ $0.43 \pm 0.03 \mu\text{M}$ และ 4-O-acetylphysangulide B มีค่า IC_{50} การยับยั้งเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก PC-3 ประมาณ $0.32 \pm 0.02 \mu\text{M}$ physangulide B มีค่า IC_{50} ของการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด SKLU-1 มีค่า IC_{50} ประมาณ $0.35 \pm 0.01 \mu\text{M}$ และ 4-O-acetylphysangulide B มีค่า IC_{50} ของการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด SKLU-1 ประมาณ $0.27 \pm 0.01 \mu\text{M}$ ขณะที่ยาต้านมะเร็งแคมปโทเธซิน (camptothecin) ที่มีค่า IC_{50} ของการยับยั้งเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก PC-3 ประมาณ $0.12 \pm 0.01 \mu\text{M}$ และค่าการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด SKLU-1 ประมาณ $0.15 \pm 0.009 \mu\text{M}$ ซึ่งพบว่า physangulide B กับ 4-O-acetylphysangulide B จะยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่า physangulide-acetonide อาจเกี่ยวข้องกับจำนวนพันธะเอสเทอร์ในโครงสร้าง โดย physangulide-acetonide จะมีพันธะเอสเทอร์ที่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 3 ขณะที่ physangulide B และ 4-O-acetylphysangulide B ไม่มีพันธะเอสเทอร์ที่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 3 (ภาพที่ 2.6)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างสาร physangulide B (1); 4-O-acetylphysangulide B (2) และ physangulide-acetonide (3) [24]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 ฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ

การแยกสารบริสุทธิ์ physalin E ที่ได้จากส่วนเหนือดินของต้นโทงเทง ที่เป็นสารเคมีในกลุ่มเซโค-สเตอรอยด์ สามารถยับยั้งการอักเสบของผิวหนังอักเสบแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังได้ จากการชักนำหนูทดลองให้เกิดการอักเสบด้วยสาร 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) และ oxazolone โดยพบว่าปริมาณของ pro-inflammatory cytokines (TNF- α และ IFN- γ) ลดลงและกิจกรรมของเอนไซม์ myeloperoxidase (MPO) ลดลงเมื่อใช้ Physalin E ความเข้มข้น 0.125 - 0.5 mg/ear [25]

สารสกัดจากต้นโทงเทงช่วยสร้างภูมิคุ้มกันได้ จากการทดสอบในหนูทดลองที่เป็นโรคมะเร็งผิวหนัง (lupus erythematosus) จากการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันด้วยการฉีดยา pristane ปริมาตร 0.7 mL แล้วตรวจนับปริมาณลิวโคไซด์ทั้งหมด การจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงและเนื้อเยื่อของไตและเนื้อเยื่อของม้ามและแยกโปรตีนด้วย Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) เมื่อผ่านไป 4 - 8 สัปดาห์ พบว่าความเข้มข้นของสิ่งสกัดจากต้นโทงเทงที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 1,000 mg/kg-BW จะช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันใกล้เคียงกับยาเพรดนิโซน (Prednisone) ที่เป็นยาในกลุ่มคอร์ติโคสเตียรอยด์ ที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 18.2 mg/kg โดยพบว่าการปริมาณลิวโคไซด์ที่นับได้จะมีปริมาณ $21,500 \pm 1,759.98$ เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ขณะที่ปริมาณลิวโคไซด์ปกติมีค่า $12,800 \pm 2,840.75$ เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และยังพบว่าการใช้สิ่งสกัดจากต้นโทงเทงดังกล่าวจะช่วยเพิ่มปริมาณ antinuclear antibody (ANA) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 102-105 kDa ได้คล้ายกับปริมาณ ANA ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ยาเพรดนิโซน จากผลการทดสอบด้วย SDS-PAGE[26]

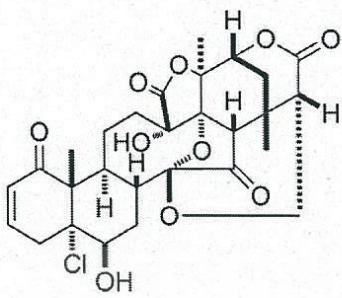
สารสกัดจากดอกจากต้นโทงเทง (*Physalis angula*) สารสกัดจากผลของต้นพริกทาง (*Piper cubeba*) และสารสกัดจากดอกกุหลาบ (*Rosa hybrida*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 80% มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ เมื่อทดสอบด้วยวิธี carrageenan-induced paw edema, arachidonic acid-induced ear edema, formaldehyde-induced arthritis และการเหนียวน้ำให้เกิดการอักเสบจากสาร 2,4-เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไดโนโตรฟลูออโรเบนซีน (DNFB) พบว่าการบ่อนสารสกัดจากพืชตัวอย่างดังกล่าวปริมาณ 200 mg/kg เป็นเป็นเวลา 3 สัปดาห์ จะช่วยยับยั้งการอักเสบจากการสังเกตการบวมที่อุ้งเท้าหนูทดลอง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุกวิธีทดสอบ ($P < 0.05$) [27]

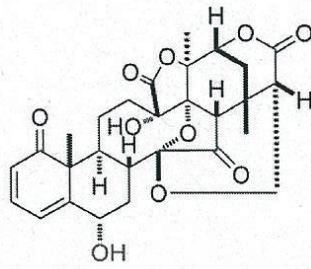
สารสกัดจากต้นโทงเทงที่สกัดด้วยน้ำมีลิลิว (Milli-Q) ช่วยยับยั้งการอักเสบและเป็นสารเสริมภูมิคุ้มกันได้ จากการเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยคาร์ราจีแนน ความเข้มข้น 1% เข้าบริเวณด้านหลังของหนูทดลอง (carageenan subcutaneous rat's air pouches) แล้ววิเคราะห์การต้านการอักเสบจากกิจกรรมของเอนไซม์ adenosine deaminase (AD), ปริมาณไนไตรต์ และปริมาณพรอสตาแกลนดิน อี 2 (PGE₂) ปริมาณ tumor growth factor จากการฉีดสารสกัดจากต้นโทงเทง และการฉีดยาเอนโดเมทาซินความเข้มข้น 0.5 mg/kg – 5 mg/kg ก่อนที่จะมีการฉีดคาร์ราจีแนน พบว่าการฉีดสารสกัดจากต้นโทงเทงความเข้มข้น 1 mg/kg และ 5 mg/kg จะช่วยป้องกันการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสังเกตได้จากกิจกรรมของเอนไซม์ AD ที่ลดลง ปริมาณ PGE₂ ที่ลดลง และปริมาณ TGF- β ที่เพิ่มขึ้น [28]

2.4 สารเคมีที่ได้จากต้นโทงเทง

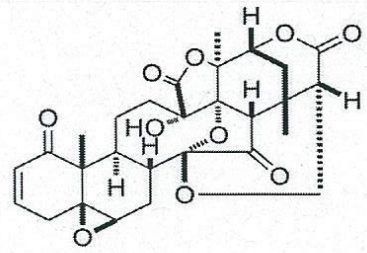
ต้นโทงเทงประกอบไปด้วยสารเคมีที่สำคัญหลายประเภท เช่น ส่วนของผลประกอบด้วย อัลคาลอยด์ ฟีนอล แทนนิน ไกลโคไซด์และคาร์โบไฮเดรต แต่ไม่พบซาโปนิน ในส่วนของผลที่สกัดด้วย เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เอธิลอะซิเตต, อะซิโตนและเมทานอล [29] ส่วนที่แยกได้จากลำต้นและใบของโทงเทงเป็นสารเคมีประเภทสเตอรอยด์ เช่น physalins E, physalins F, physalins G, physalins H และ physalins I [30] และยังพบฟลาโวนอยด์หลายชนิดจากส่วนของใบ เช่น quercetin, quercetin 3-O-methyl ether และ isoquercetrin [31] ตัวอย่างสารเคมีที่พบในต้นโทงเทงแสดงได้ดังภาพที่ 2.7



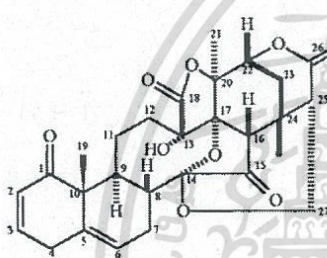
Physalin H



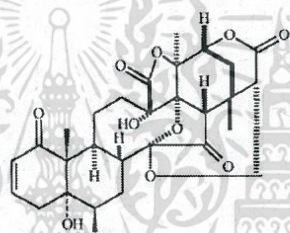
Physalin G



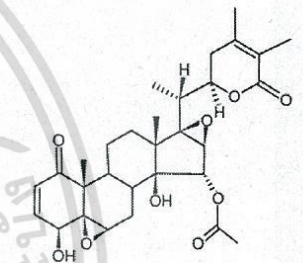
Physalin F



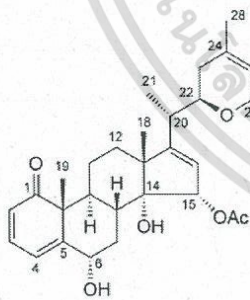
Physalin B



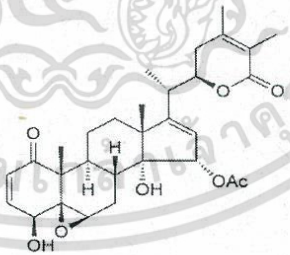
Physalin D



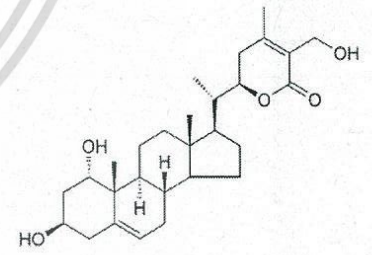
Physagulin C



Physagulin L



Physagulin A



Pubesenolide

ภาพที่ 2.7 ตัวอย่างสารเคมีที่ได้จากต้นโงเทง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การเก็บตัวอย่างพืชและการพิสูจน์พันธุ์พืช

เก็บตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ของต้นโทงเทง ได้แก่ ผล, ใบ, ลำต้น และรากที่เก็บได้จากจังหวัดชัยภูมิ ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2557 นำไปพิสูจน์พันธุ์พืช ที่พิพิธภัณฑ์พืช ศ. กลิน สุวตะพันธุ์ เขตพญาไท กรุงเทพฯ ชื่อ วิทยาศาสตร์ และทำ voucher specimen ได้เลข Herbarium nuber A 015237 (BCU)

3.2 การสกัดพืช

นำตัวอย่างพืชส่วนต่าง ๆ มาตากแห้ง บดให้มีขนาดเล็กลง นำมาสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิค อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน อะซิโตนและเมทานอล ตามลำดับ แยกส่วนสารละลายออกด้วยกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 แล้วนำส่วนของสารละลายมาระเหยตัวทำละลายออกตั้งวิธีการในภาพที่ 3.1 และได้ปริมาณสารสกัดแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายแต่ละชนิด (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากต้นโทงเทง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ปริมาณสารสกัดจากต้นโทงเทงที่สกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 30 นาที

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	น้ำหนักพืชแห้ง (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	ปริมาณสกัด (%)
ผล	เฮกเซน	132.40	1.55	1.17
	อะซิโตน		1.09	0.82
	เมทานอล		1.34	1.01
ใบ	เฮกเซน	495.61	1.25	0.25
	อะซิโตน		1.24	0.25
	เมทานอล		1.33	0.27
ลำต้น	เฮกเซน	725.53	1.16	0.16
	อะซิโตน		1.25	0.17
	เมทานอล		1.17	0.16
ราก	เฮกเซน	144.01	1.07	0.74
	อะซิโตน		1.08	0.75
	เมทานอล		1.30	0.87

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน [32]

ซึ่งสารตัวอย่างมา 0.02 กรัม ละลายในเมทานอล เข้มข้น 100% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของสารสกัดเข้มข้น 20 mg/ml และเจือจางสิ่งสกัดต่อ ให้มีความเข้มข้นระหว่าง 0.2 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยซึ่งสาร DPPH ปริมาณ 0.0078 กรัม ละลายใน เมทานอลความเข้มข้น 99.8% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เตรียมสารละลาย L-ascorbic ความเข้มข้น 100 µg/ml โดยซึ่งสาร ascorbic 0.001 g ละลายในเมทานอล 99.8% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น ระหว่าง 1 ถึง 100 µg/ml เพื่อเป็นสารมาตรฐาน

ดูดสารละลายของตัวอย่างที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นใส่หลอดทดลองสีขาปริมาตร 40 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 760 ไมโครลิตร นำไปปมในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้ ascorbic acid เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้เมทานอล 100% เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (ทดลอง 3 ซ้ำ) คำนวณหาค่าร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระจากสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\% \text{ DPPH Reduction} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

โดยที่ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

3.4 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของรา *Magnaporthe grisea* Mat 1-1 THL1156 (BCC 10261) [34]

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100% เมื่อจะใช้งาน เจือจางตัวอย่างด้วย DMSO ความเข้มข้น 10% ให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 mg/mL เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของราเบื้องต้น ก่อนที่จะมีการเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นระหว่าง 3.12-100 $\mu\text{g/mL}$ ด้วย DMSO ความเข้มข้น 10%

เลี้ยงรา *Magnaporthe grisea* ในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 7 วัน การเกิดสปอร์เกิดภายใต้อากาศที่ไม่มีแสง เก็บเกี่ยวสปอร์ราด้วยสารละลาย tween 20 ความเข้มข้น 0.8 % v/v เหยี่ยงแยกสปอร์ราออกด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วเตรียมสปอร์ให้แขวนลอยในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ นำสารแขวนลอยของสปอร์มาเจือจางให้ได้จำนวนสปอร์ 1.2×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ด้วยอาหาร minimum salt medium (MM) เข้มข้น 20% (อาหาร MM ประกอบด้วย แอมโมเนียมไนเตรตเข้มข้น 3 g/L, กลูโคสเข้มข้น 20 g/L, โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) เข้มข้น 0.5 g/L, โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) เข้มข้น 0.5 g/L, แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรตเข้มข้น 0.5 g/L, แคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5 g/L และสารสกัดจากยีสต์เข้มข้น 1 g/L)

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของรา *Magnaporthe grisea* โดยดูดสารแขวนลอยของสปอร์รา ปริมาตร 25 μL ลงในไมโครเพลตที่มี 384 well ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-2.5 ชั่วโมงเพื่อให้สปอร์ของราติดอยู่ที่ไมโครเพลต เมื่อครบระยะเวลาเติมสารละลายของสิ่งสกัดลงไปปริมาตร 25 μL นำเพลตไปบ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อบ่มครบระยะเวลาให้เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อลงไป และเติมสารเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5,6-carboxy fluorescence diacetate (CFDA) ความเข้มข้น 0.9 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 70 % ปริมาตร 2 μ L นำไปตั้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 5-10 นาที ล้างเพลทด้วยน้ำประปาแล้วซับน้ำให้แห้งก่อนที่จะเติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อลงไป ปริมาตร 25 μ L นำมาวัดการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่นการดูดกลืน 485 nm และที่ความยาวคลื่นแสงเปล่งออก 535 nm โดยใช้ยาปฏิชีวนะแอมโฟเทอริซิน-บี เป็นสารมาตรฐาน และใช้อาหารและ DMSO เข้มข้น 10 % อย่างละ 25 μ L เป็นแบล็ก และใช้ DMSO เข้มข้น 0.5 % เป็นคอนโทรล (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำมาคำนวณปริมาณการยับยั้งการเจริญของราได้จากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (FU_T / FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่าง

FU_C คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของคอนโทรล

3.5 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra

[35, 36]

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100% เมื่อจะใช้งานเจือจางตัวอย่างด้วย DMSO ความเข้มข้น 5% ให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.5 mg/mL เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของราเบื้องต้น ก่อนที่จะมีการเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นระหว่าง 3.12-100.00 μ g/mL ด้วย DMSO ความเข้มข้น 5%

เลี้ยงแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ในอาหาร 7H10 ที่มียาปฏิชีวนะกานามัยซินความเข้มข้น 30 μ g/mL เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำมาเตรียมสตาร์ตเตอร์โดยการเขี่ยโคโลนีแบคทีเรีย 2-3 โคโลนีลงในอาหารเหลว 7H9 ที่มีปริมาตร 10 mL (อาหาร 7H9 จะมีการเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 2% v/v, คาซิโตนเข้มข้น 0.1% w/v, tween80 เข้มข้น 0.05% v/v, middlebrook OADC เข้มข้น 10% v/v และกานาเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มัยซินเข้มข้น 30 µg/mL) เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร 7H9 แบบเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิ 37°C กระทั่งวัดค่าความขุ่นของเซลล์ให้ได้ประมาณ 0.5-1.0 ที่ความยาวคลื่น 550 nm แล้วดูดสตาร์ทเตอร์ของแบคทีเรียถ่ายลงในอาหาร 7H9 ใหม่ อัตราส่วน 1:10 แล้วหมักต่อจนกระทั่งวัดค่าความขุ่นของเซลล์ได้ประมาณ 0.5-1.0 นำน้ำหมักมาเหวี่ยงแยกเซลล์แบคทีเรียออกด้วยความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วล้างเซลล์แบคทีเรียด้วยบัฟเฟอร์ PBS สองครั้ง นำเซลล์แบคทีเรียที่ตกตะกอนมาล้างทำให้ออกฤทธิ์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิคเป็นเวลา 15 วินาที ทั้งหมด 8 ครั้ง แล้วนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียให้ได้ประมาณ 1×10^6 CFU/mL เพื่อใช้ทดสอบ

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Mycobacterium tuberculosis* ได้โดยดูดสารตัวอย่างปริมาตร 5 µL ลงในไมโครเพลตขนาด 384-well เติมสารแขวนลอยของแบคทีเรียลงไปปริมาตร 45 µL แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 วัน นำมาวัดการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่นแสงกระตุ้น 485 nm และที่ความยาวคลื่นแสงเปล่งออก 535 nm และใช้ DMSO เข้มข้น 0.5 % เป็นคอนโทรล (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำมาคำนวณปริมาณการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้จากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (FU_T / FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่าง

FU_C คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของคอนโทรล

3.6 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603

[37]

เตรียมตัวอย่างสารสกัดจากพืชความเข้มข้น 10 mg/mL ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100%

เมื่อจะใช้งานเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อให้สารสกัดมีความเข้มข้นประมาณ 0.5 mg/mL เพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเบื้องต้น ก่อนที่จะมีการเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น ระหว่าง 15.6-500.00 $\mu\text{g/mL}$ ด้วย DMSO ความเข้มข้น 5%

เลี้ยงแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* ในอาหาร tryptic soy agar (TSA) ที่อุณหภูมิ 37°C ตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน เชื้อโคลนเดี่ยวของแบคทีเรียลงในอาหารเหลว Mueller hinton (MB) แล้วนำบ่มมีการเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์ให้ได้ความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 nm (OD_{600}) ประมาณ 0.20 หรือมีจำนวนเซลล์ 1×10^8 CFU/mL แล้วนำมาเจือจางต่อด้วยอาหารเหลว MB ให้ได้จำนวนเซลล์ 1×10^4 CFU/mL เพื่อใช้ทดสอบ

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Klebsiella pneumoniae* ได้โดยดูดสารตัวอย่างปริมาตร 5 μL ลงในไมโครเพลตขนาด 384-well เติมน้ำเกลือของแบคทีเรียลงไปปริมาตร 45 μL แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 14 ชั่วโมง นำมาวัดค่าความขุ่นของการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ความยาวคลื่น 600 nm (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำมาคำนวณปริมาณการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้จากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (\text{OD}_T / \text{OD}_C)] \times 100$$

เมื่อ OD_T คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

OD_C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของคอนโทรล

3.7 การทดสอบการทดสอบการยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปาก KB ATCC-CCL-17 [38]

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100% แล้วเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อให้มีความเข้มข้น 0.5 mg/mL แล้วนำมาเจือจางตามลำดับด้วย DMSO ความเข้มข้น 5% ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นระหว่าง 2.58-625.00 $\mu\text{g/mL}$ ก่อนนำไปทดสอบ

เตรียมสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB ATCC-CCL-17) ด้วยอาหาร minimal essential medium (MEM) (อาหาร MEM ประกอบด้วย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10%, โซเดียมไพรูเวท ความเข้มข้น 1 mM, อินซูลินความเข้มข้น 0.01 mg/mL, กรดอะมิโนไม่จำเป็น 1 เท่า และโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1.5 g/L) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้บรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% แล้วนับจำนวนเซลล์ให้ได้จำนวนเซลล์ 2.2×10^4 cell/mL เพื่อใช้ทดสอบ

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งโดยดูตัวอย่างของสิ่งสกัดปริมาณ 5 μ L ลงในไมโครเพลตที่มี 384-well แล้วเติมสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็งปริมาณ 45 μ L นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 3 วัน เมื่อบ่มครบระยะเวลา เติมน้ำละลายเรซาซูรินความเข้มข้น 0.0625 mg/mL ปริมาณ 12.5 μ L นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจวัดเซลล์มะเร็งด้วยการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่นถูกกระตุ้น 530 nm และที่ความยาวคลื่นแสงเปล่งออก 590 nm เปรียบเทียบกับคอนโทรลที่เป็นเซลล์มะเร็งที่แขวนลอยในสารละลาย DMSO เข้มข้น 0.5% โดยใช้ยา doxorubicin เป็นสารมาตรฐาน (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำมาคำนวณปริมาณการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้จากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (FU_T / FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่าง
 FU_C คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของคอนโทรล

3.8 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187 ATCC-CRL-5804) [38]

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100% แล้วนำตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อให้มีตัวอย่างความเข้มข้น 0.5 mg/mL ด้วยน้ำกลั่น แล้วเจือจางตามลำดับด้วย ตัวทำละลาย DMSO ความเข้มข้น 5% ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 2.63-625.00 μ g/mL

เตรียมสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็งช่องปาก (NCI-H187 ATCC CRL-5804) ด้วยอาหาร Roswell

Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640) (อาหาร RPMI-1640 ประกอบด้วย bovine serum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

albumin (BSA) ความเข้มข้น 15%, โซเดียมไพรูเวท ความเข้มข้น 1 mM, กลูโคสความเข้มข้น 2.5 g/L และ โซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 2.2 g/L นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% นับจำนวนเซลล์ในช่องลึอกเพลสให้ได้จำนวนเซลล์ 6.7×10^4 cell/mL เพื่อใช้ทดสอบ

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งโดยดูดตัวอย่างสารสกัดความเข้มข้นละ 5 μ L ลงในไมโครเพลทขนาด 384-well แล้วเติมสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็ง ที่มีจำนวนเซลล์ 6.7×10^4 cell/mL ปริมาตร 45 μ L นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 5 วัน เมื่อบ่มครบระยะเวลาเติมสารละลายเรซาซูรินความเข้มข้น 0.0625 mg/mL ปริมาตร 12.5 μ L นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์มะเร็งด้วยการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่นการถูกกระตุ้น 530 nm และที่ความยาวคลื่นแสงเปล่งออก 590 nm เปรียบเทียบกับคอนโทรลที่เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งด้วย DMSO เข้มข้น 0.5% โดยใช้ยา ellipticine เป็นสารมาตรฐาน (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำมาคำนวณปริมาณการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งจากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (FU_T / FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่าง
 FU_C คือ การแสงฟลูออเรสเซนซ์ของคอนโทรล

3.9 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งตับ HepG2 ATCC HB-8065 [38]

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100% แล้วเจือจางตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นลดลงเป็น 100 μ g/mL แล้วเจือจางตามลำดับด้วย DMSO ความเข้มข้น 1% ที่ละลายอยู่ในอาหาร ให้มีความเข้มข้นระหว่าง 3.91-125.00 μ g/mL เพื่อใช้ทดสอบ

เตรียมสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 ATCC HB-8065) ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Minimal Essential Medium (MEM) (อาหาร MEM ประกอบด้วย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10%, แอลกลูตามีน ความเข้มข้น 2 mM, กรดอะมิโนไม่จำเป็นความเข้มข้น 0.1 mM, โซเดียมไพโรเวทความเข้มข้น 1.0 mM, โซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1.5 g/L, เพนนิซิลินความเข้มข้น 100 U/mL และสเตรปโตมัยซินความเข้มข้น 100 ug/mL) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% นับจำนวนเซลล์ให้ได้จำนวนเซลล์ 2.0×10^4 cell/mL เพื่อใช้ทดสอบ

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดยดูดสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็งในอาหาร MEM ปริมาตร 200 uL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 2 วัน ดูดอาหารเก่าออกแล้วเติมอาหารใหม่ ปริมาตร 200 uL ที่ประกอบด้วยสารสกัดความเข้มข้นสารสกัดต่าง ๆ นำไปบ่มต่อ ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 วัน เมื่อบ่มครบระยะเวลาเติมสารละลายเรซาซูรินความเข้มข้น 125 ug/mL ปริมาตร 50 uL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์มะเร็งด้วยการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่นการถูกกระตุ้น 530 nm และที่ความยาวคลื่นแสงเปล่งออก 590 nm เปรียบเทียบกับคอนโทรลที่เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งกับ DMSO เข้มข้น 1.0% โดยใช้ยา ellipticin เป็นสารมาตรฐาน (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำมาคำนวณปริมาณการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้จากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (FU_T / FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่าง

FU_C คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของคอนโทรล

3.10 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ Caco2 ATCC HBT-37 [38]

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100% นำตัวอย่างมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้น 100 ug/mL แล้วเจือจางตามลำดับด้วย DMSO ความเข้มข้น 1% ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้มีความเข้มข้นระหว่าง 3.91-125.00 ug/mL เพื่อใช้ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็ง Caco2 ATCC HTB-37 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Minimal Essential Medium (MEM) (ประกอบด้วย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 10%, แอลกลูตามีน ความเข้มข้น 2 mM, กรดอะมิโนไม่จำเป็นความเข้มข้น 0.1 mM, อินซูลิน-ทรานสเฟอร์ลิน-ซีลีเนียม เอ็กซ์ ความเข้มข้น 0.1 IU/mL, โซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1.5 g/L, เพนนิซิลินความเข้มข้น 100 U/mL และสเตรปโตมัยซินความเข้มข้น 100 ug/mL) นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% นับจำนวนเซลล์ในช่วงล็อกเฟสให้ได้จำนวนเซลล์ 2.0×10^4 cell/mL เพื่อใช้ทดสอบ

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดยดูดสารแขวนลอยของเซลล์มะเร็งปริมาตร 200 μ L ลงในไมโครเพลตที่มี 96-well นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 2 วัน ตูดอาหารเก่าออกแล้วเติมอาหารใหม่ที่ประกอบด้วยสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 1% ปริมาตร ปริมาตร 200 μ L นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้อากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 % เป็นเวลา 1 วัน เมื่อปั่นครบระยะเวลาเติมสารละลายเรซาซูรินความเข้มข้น 125 μ g/mL ปริมาตร 50 μ L นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์มะเร็งจากการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่นการถูกกระตุ้น 530 nm และที่ความยาวคลื่นแสงเปล่งออก 590 nm เปรียบเทียบกับคอนโทรลที่เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งกับ DMSO เข้มข้น 1.0% โดยใช้ยา ellipticin เป็นสารมาตรฐาน (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำมาคำนวณปริมาณการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้จากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (FU_T / FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่าง

FU_C คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของคอนโทรล

3.11 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase, NA) [39]

เตรียมสารละลายของตัวอย่างเริ่มต้นให้มีความเข้มข้น 10 mg/mL ที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้น 100 % แล้วเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นลดลงเป็น 0.2 mg/mL ด้วย DMSO ความเข้มข้น 2%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วเจือจางตัวอย่างต่อให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นอยู่ในช่วง 31.3 mg/mL-1,000 ug/mL ด้วย DMSO ความเข้มข้น 2%

ในการวิเคราะห์ให้คัดตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 5 ul เติมเอนไซม์นิวรามินิเดสความเข้มข้น 0.2 ยูนิต ปริมาตร 5 uL ที่ละลายอยู่ในบัฟเฟอร์ 2-(N-morpholino)-ethanesulfonic acid (MES) ความเข้มข้น 0.1 M (pH=6.5) (ที่ประกอบด้วย CaCl₂ ความเข้มข้น 100 mM) นำไปปั่นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติมสับสเตรต 2'-(4-methylumbelliferyl)- α -D-N-acetylneuraminidic acid (MUNANA) ความเข้มข้น 1,500 uM ปริมาตร 10 uL แล้วนำไปปั่นต่อเป็นเวลา 60 นาที แล้วหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ด้วยสารละลายไกลซีนเข้มข้น 100 uM ที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้น 25% (pH = 10.7) ปริมาตร 30 ul (เอนไซม์ NA ปริมาณ 1 ยูนิต แสดงถึงปริมาณ 4-methylumbelliferone (4-MU) ที่เกิดขึ้นในเวลาหนึ่งนาที) วัดปริมาณการเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ของ 4-MU ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นถูกกระตุ้น 365 nm ที่ความยาวคลื่นแสงเปล่งออกที่ความยาวคลื่น 450 nm เปรียบเทียบการเรืองแสงของคอนโทรลที่ทดสอบด้วย DMSO เข้มข้น 1% คำนวณค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามินิเดส จากสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1 - (FU_T / FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ของตัวอย่าง

FU_C คือ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ของคอนโทรล

3.12 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลการทดลอง 3 ซ้ำ มาคำนวณความแปรปรวนของข้อมูลด้วยด้วยโปรแกรม SPSS

เวอร์ชัน 15 วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วย ONE WAY ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

3.13 การคำนวณค่า IC₅₀

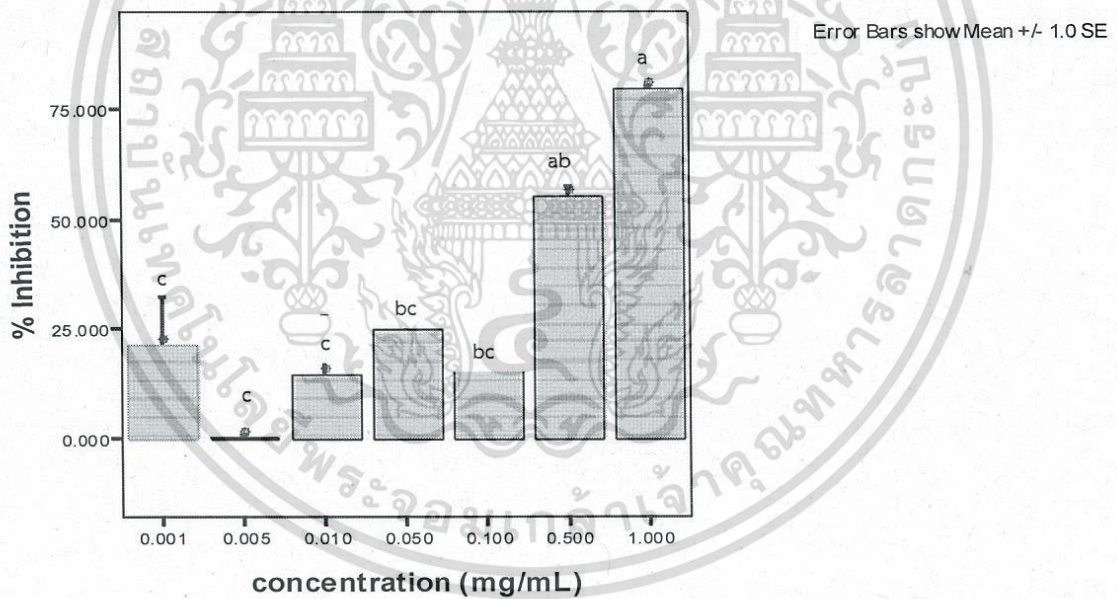
นำผลการทดลอง 3 ซ้ำ มาคำนวณ ค่า IC₅₀ ด้วยโปรแกรม Graphpad Prism เวอร์ชัน 7. เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สารสกัดจากผลของโทงเทงที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ความเข้มข้นสุดท้ายระหว่าง 0.001 – 1.000 mg/mL emicค่าการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ได้ดี ค่าการดักจับอนุมูลอิสระแปรไปตามความเข้มข้นของสิ่งสกัด (ภาพที่ 4.1)

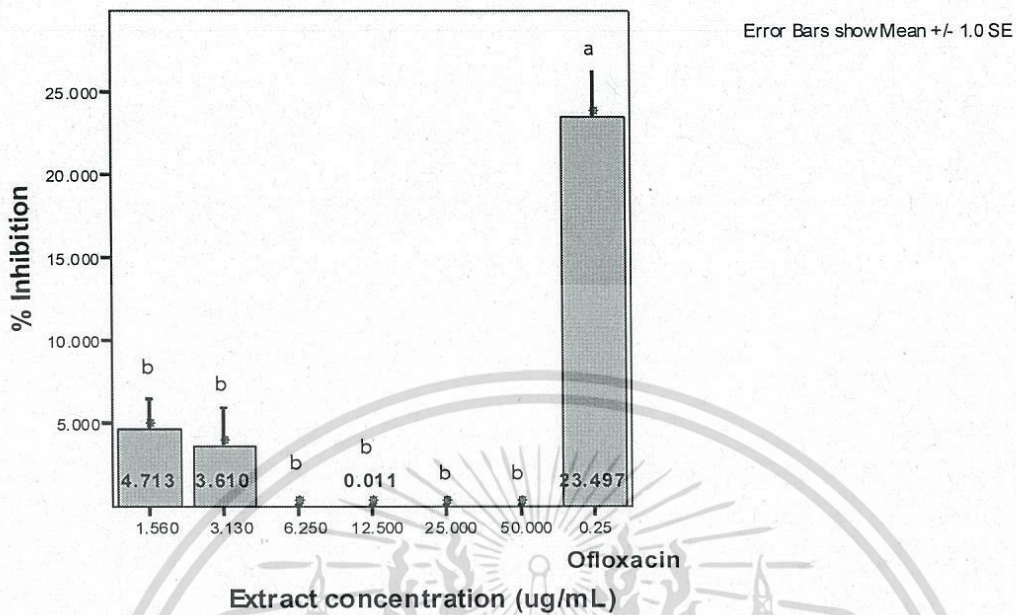


ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระที่เป็น DPPH ของสิ่งสกัดจากผลของโทงเทงที่สกัดด้วยอะซิโตน ความเข้มข้น 0.001 – 1.000 ug/mL (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$))

การที่โง่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง อาจมีสาเหตุมาจากมีฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบอยู่ในผลและใบ ในปริมาณที่สูงกว่าสารอื่นที่พบในใบและผล เช่น อัลคาลอยด์ ไฟเตท แทนนินและซาโปนินที่พบในใบและผล ของโง่งที่สกัดด้วยเอทานอล [40] จากการทดลองของ Choi และคณะ [41] พบว่าสารสกัดจากดอกโง่งที่สกัดด้วยเมทานอล ความเข้มข้นของสารสกัดประมาณ 0.5 ug/mL สามารถการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH (ความเข้มข้น 10 mM) มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระประมาณ $42.9 \pm 0.1\%$ ซึ่งสารสกัดจากดอกโง่งที่สกัดด้วยเมทานอล มีค่าการดักจับ DPPH สูงกว่าสารสกัดจากผลขิง (*Zingiber officinale*) ที่มีค่าการดักจับ DPPH ประมาณ $22.3 \pm 0.3\%$ และสารสกัดจากดอกโง่งที่สกัดด้วยเมทานอล มีค่าการดักจับ DPPH สูงกว่าการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดพริกไทย (*Piper nigrum*) ที่ยับยั้งได้ $16.7 \pm 0.1\%$ แต่สามารถดักจับอนุมูลอิสระที่เป็น DPPH ได้น้อยกว่าสารสกัดจากขมิ้นชัน ที่มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ประมาณ $15.30 \pm 0.2\%$

4.2 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603

การยับยั้งการเจริญของ *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 ของสารสกัดผลโง่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ความเข้มข้นระหว่าง 1.560-50 ug/mL ได้เมื่อใช้สารสกัดเข้มข้นปริมาณน้อย 1.56 ug/mL ยับยั้งได้ประมาณ 4.173% ส่วนการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจะสามารถยับยั้งได้ดีกว่าการยับยั้งของยา Ofloxacin ที่ความเข้มข้น 0.25 ug/mL ยับยั้งได้ประมาณ 23.497% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) มีค่า $IC_{50} \pm SE$ ประมาณ 0.65 ± 0.33 ug/mL (ภาพที่ 4.2)



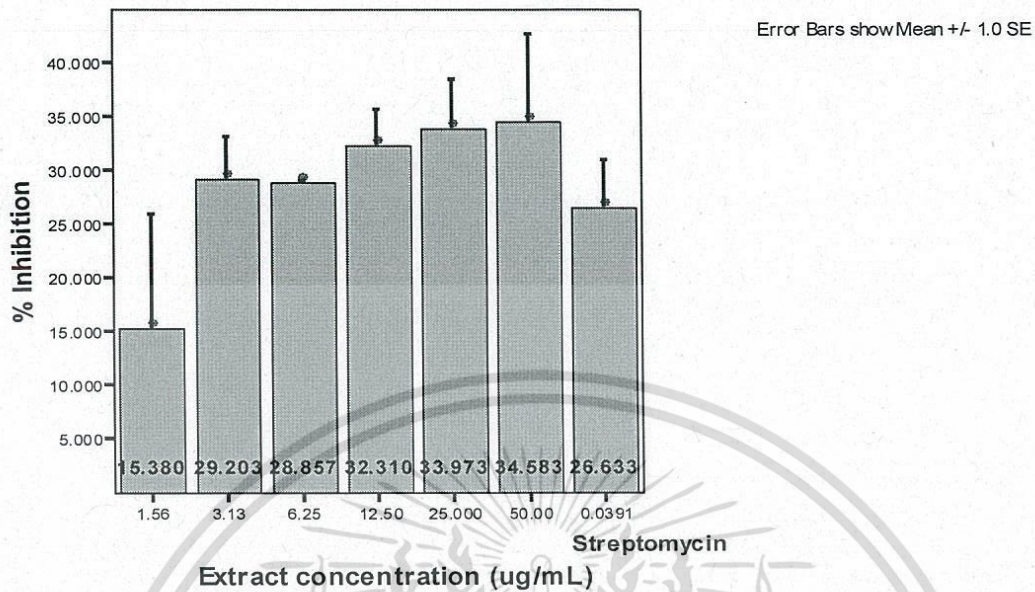
ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้น 1.560-50.00 ug/mL เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Ofoxacin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$))

ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Rivera และคณะ (2015) ที่พบว่าสารสกัดจากตัวทำละลายไตรคลอโรมีเทน ความเข้มข้น 500 ug/mL จะยับยั้งการเจริญของ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ได้สูงถึง 94.05 ± 1.94 % และมีค่าการยับยั้งสูงกว่าการยับยั้งของสารสกัดจากปิโตรเลียมอีเทอร์และสารสกัดด้วยเมทานอลที่ยับยั้งได้ประมาณ $18.28 \pm 5.49\%$ และ $10.25 \pm 0.97\%$ ตามลำดับ [42] ขณะที่ Osho และคณะ (2010) ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Klebsiella pneumoniae* ของสารสกัดจากส่วนเหนือดินของต้นโทงเทง ด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่ามีค่า MIC ของการยับยั้งการเจริญของ *Klebsiella pneumoniae* ประมาณ 4.0 ± 0.2 mg/mL [43]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra

สารสกัดผลโทงเทงด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ความเข้มข้นระหว่าง 1.560-50.0 ug/mL สามารถยับยั้งการเจริญของ *My cobacterium tuberculosis* ได้ดีกว่าการยับยั้งของยาสเตรปโตมัยซิน ที่ระดับความเข้มข้น 0.0391 ug/mL ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) มีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 3.28 ± 0.85 ug/mL (ภาพที่ 4.3) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pietro และคณะ (2000) ที่ได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *My cobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 ของสารสกัดจากส่วนเหนือดินของต้นโทงเทงด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มแฟรกชันที่ A1-29-12 มีค่า ปริมาณยาต่ำสุดที่ป้องกันไม่ให้เกิดการเจริญของแบคทีเรีย ในหลอดทดลอง (MIC) ประมาณ 32 ug/mL แต่ยังไม่ได้ระบุว่าเป็นสารเคมีชนิดใด [44] ต่อมา Januarion และคณะ (2002) ได้ทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra ของสารสกัดจากส่วนเหนือดินของต้นโทงเทง มีการทำให้สารสกัดบริสุทธิ์ด้วยซิลิกาเจล ที่มีการชะด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มผสมกับเมทานอล สารบริสุทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญของ *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27294 ได้สูง physalin B ที่แยกได้มีค่า MIC ของการยับยั้งการเจริญของ *M. tuberculosis* H₃₇Rv สูงกว่า 128 ug/mL และ physalin D มีค่า MIC ของการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ประมาณ 32 ug/mL ตามลำดับ [45]

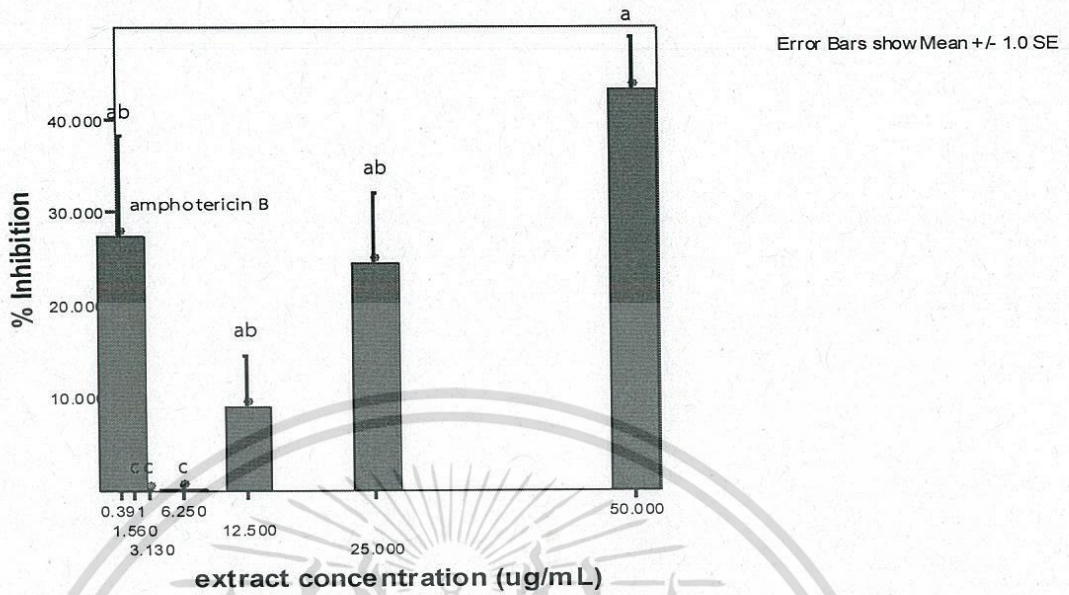


ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* H₃-Ra strain ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 1.56-50.00 ug/mL เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Streptomycin ($p < 0.01$)

4.4 การยับยั้งการเจริญของรา *Magnaporthe grisea* Mat 1-1 THL1156

สารสกัดของผลโทงเทงด้วยตัวทำละลายอะซิโตนยับยั้งการเจริญของราก็โรค *Alternaria brassicicola* และ *Curvularia lunata* ได้น้อยกว่าการยับยั้งการเจริญของรา *Magnaporthe grisea* ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 50 ug/mL ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของรา *M. grisea* ได้ประมาณ $43.25 \pm 9.73\%$ และสารสกัดความเข้มข้นดังกล่าวมีค่าการยับยั้งการเจริญของรา *M. grisea* สูงกว่าการยับยั้งของยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ความเข้มข้น 0.390 ug/mL มีค่าการยับยั้งการเจริญของราประมาณ $15.68 \pm 1.010\%$ (ภาพที่ 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงการยับยั้งการเจริญของรา *Magnaporthe grisea* ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 1.56-50.00 ug/mL ($p < 0.01$) เปรียบเทียบกับยาแอมโฟเทอริซิน บี ความเข้มข้น 0.391 mg/mL (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$))

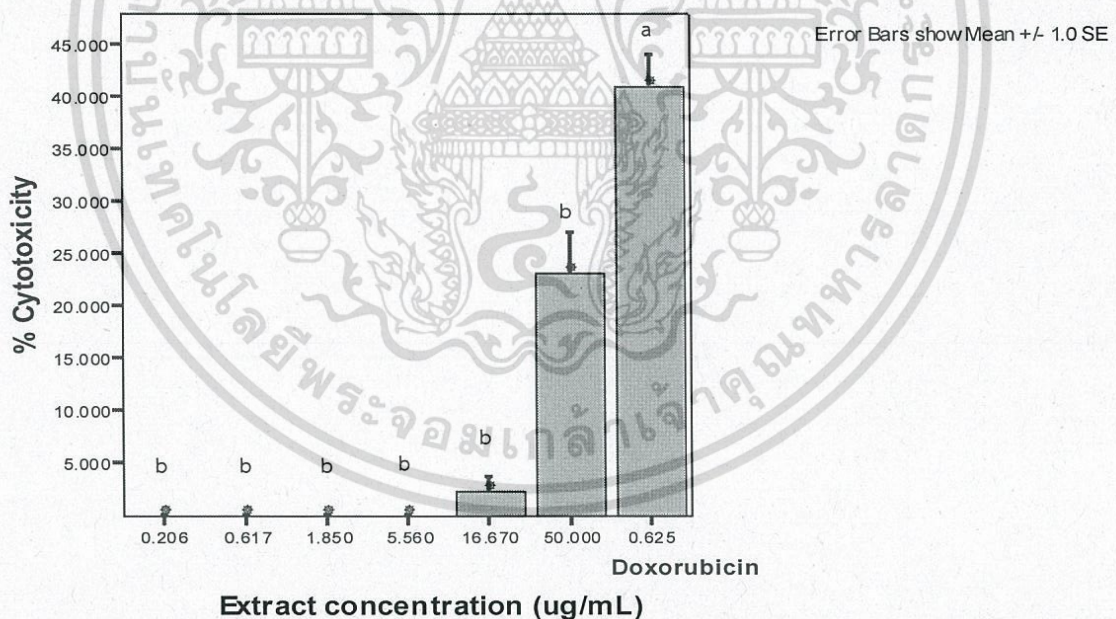
ในปัจจุบันยังไม่พบรายงานการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคทั้ง 3 ชนิดนี้ (*A. brassicicola*, *C. lunata* และ *M. grisea*) แม้ว่าปัจจุบันมีใช้พืชสมุนไพรควบคุมการเจริญเติบโตของราก่อโรคพืชหลายชนิดแพร่หลายในทางการเกษตร

4.5 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB-oral cavity)

สารสกัดของผลโหวงเหงด้วยตัวทำละลายอะซิโตนยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งช่องปากเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดระหว่าง 0.206-50.00 $\mu\text{g/mL}$ ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งช่องปากได้ เมื่อใช้ความเข้มข้นสารสกัดมากกว่า 16.67 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งสารสกัดความเข้มข้น 50.00 $\mu\text{g/mL}$ สามารถยับยั้งได้การเจริญของมะเร็งช่องปากได้ประมาณ 23.19 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่ยา Doxorubicin ความเข้มข้น 0.625 $\mu\text{g}/\text{mL}$ สามารถยับยั้งการเจริญของราได้ประมาณ 41.01 % (ภาพที่ 4.5) ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของ Ismail และ Alam (2001) ที่ได้สกัดสารสกัดจากใบของโงนเทง ด้วยตัวทำละลายที่เป็นเมทานอล พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งหลังโพรงจมูก (nasopharynx KB-16) ที่มีค่า ED_{50} การยับยั้งประมาณ 3.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [46] และยังใกล้เคียงกับการศึกษาการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปากชนิดสความัส (human oral squamous cell carcinoma, HSC3 cell) เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากต้นโงนเทงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตต โดยสารสกัดนี้จะไปเร่งกระบวนการตายของเซลล์มะเร็งแบบอะพอโทซิส สืบเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของนิวเคลียส การบวมของเมมเบรน และปฏิกิริยาของโปรตีน caspase-9 โดยมีค่า IC_{50} ของการยับยั้งประมาณ 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ เมื่อทดสอบด้วย MTT cytotoxicity assay [47]

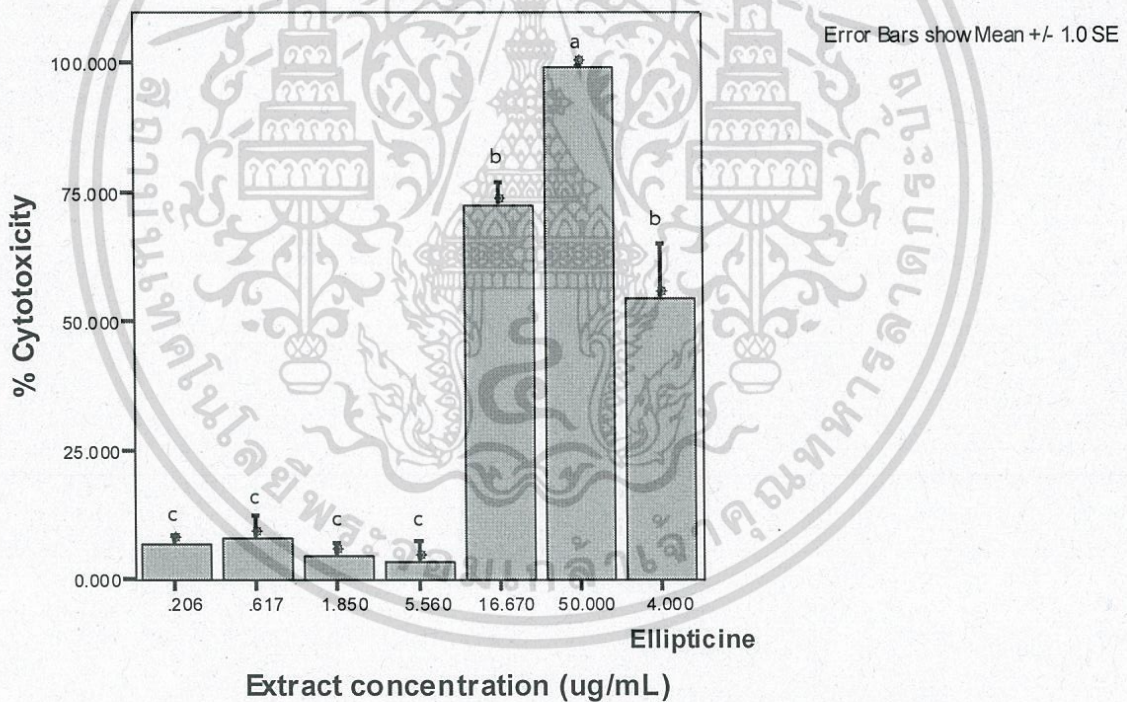


ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB-oral cavity) ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 0.206-50.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ เปรียบเทียบกับยา Doxorubicin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187)

สารสกัดของผลโทงเทงด้วยตัวทำละลายอะซิโตนยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งช่องปอดเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 50.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (ยับยั้งได้ $99.33 \pm 0.09\%$) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดทุกความเข้มข้นที่ทดสอบการเจริญของเซลล์มะเร็งช่องปอดเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 50.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับการยับยั้งการเจริญของยา Ellipticin ความเข้มข้น 4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (ยับยั้งได้ $54.80 \pm 10.04\%$) โดยมีค่า $\text{IC}_{50} \pm \text{SE}$ ประมาณ $15.06 \pm 0.49 \mu\text{g}/\text{mL}$ (ภาพที่ 4.6)



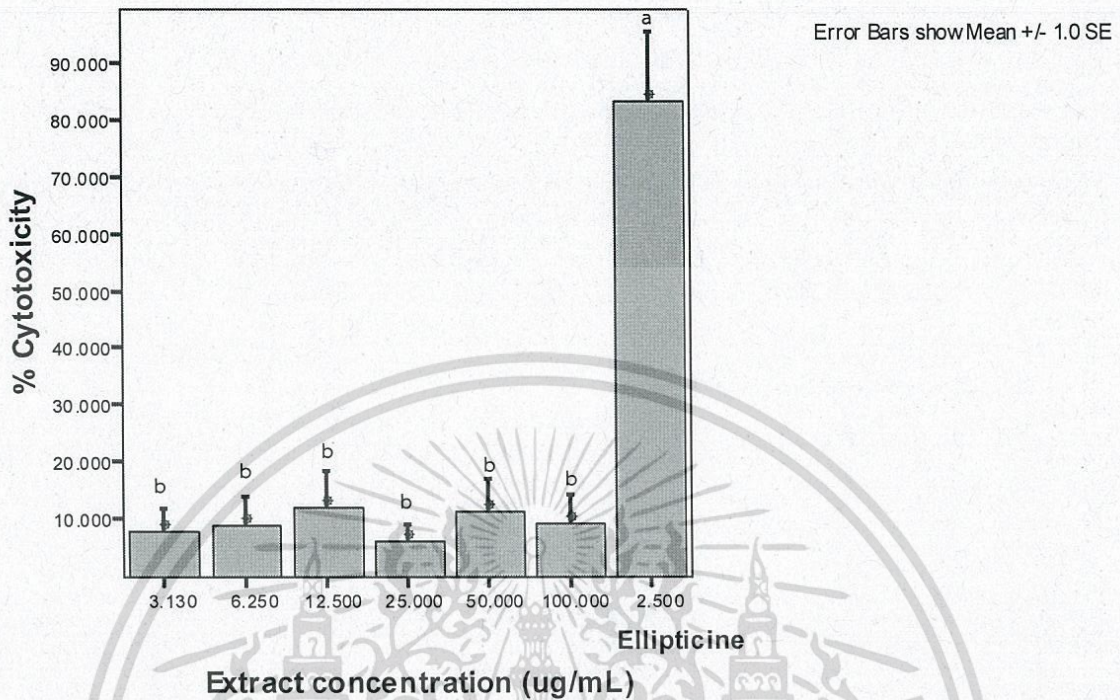
ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 0.206-50.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ เปรียบเทียบกับยา Ellipticin (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบนี้สอดคล้องกับการทดลองของ He และคณะ (2007) ที่ได้สกัดส่วนเหนือดินของโงเทง ด้วยตัวทำละลายเมทานอล แยกสารบริสุทธิ์ได้ 11 สาร ได้แก่ physagulins L – O, withanolides ได้แก่ withagulatin A, physagulin K, withaminimin, physagulin J, physagulin B, pubesenolide และ physagulin D เมื่อทดสอบการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยสารบริสุทธิ์นี้ทั้งหมด พบว่า physagulin B สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอด NCI-H460 ได้สูงกว่าสารบริสุทธิ์ชนิดอื่นที่แยกได้ โดยมีค่า IC_{50} ประมาณ $0.43 \pm 0.02 \mu\text{M}$ [48]

4.7 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 ATCC HB-8065)

การยับยั้งเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 ATCC HB-8065) ของสารสกัดจากผลของต้นโงเทงด้วยตัวทำละลายอะซิโตนความเข้มข้นระหว่าง 3.13-100.00 $\mu\text{g/mL}$ มีค่าการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับแตกต่างกับยา Ellipticine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) (ภาพที่ 4.7) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wu และคณะ (2004) ที่ได้ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับ HepG2 ด้วยสารสกัดจากต้นโงเทงด้วยตัวทำละลายเอทานอลและสกัดด้วยน้ำพบว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งตับสูงกว่าการยับยั้งเซลล์มะเร็งตับด้วยสารสกัดด้วยน้ำ โดยมีค่า IC_{50} ประมาณ $10.67 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$ และ $44.19 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ [49] โดยสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ประเภท Withanolides จากต้นโงเทงวาไรตี้ *villosa* สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด เช่น มะเร็งตับ HepG2, มะเร็งช่องอก MCF-7 และ มะเร็งกระดูก MG-63 มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง $0.06-6.73 \mu\text{M}$ [50]



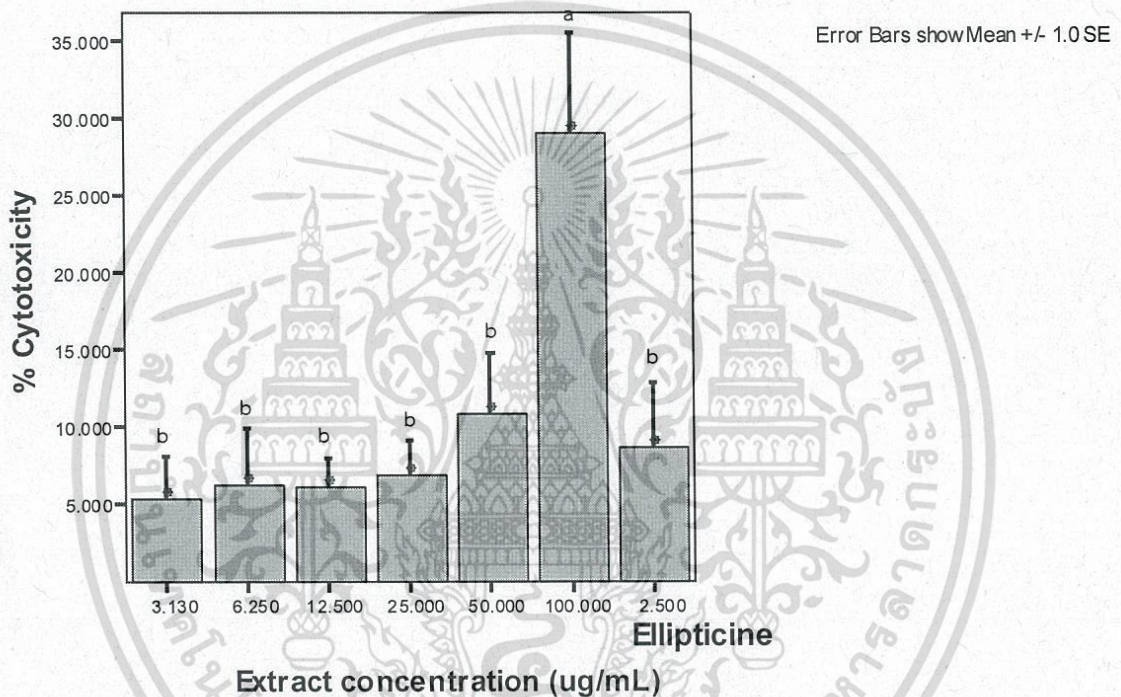
ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 ATCC HB-8065) ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 3.130-100.00 ug/mL เปรียบเทียบกับยา Ellipticine (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$))

4.8 การเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco2 ATCC HTB-37)

การยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco2 ATCC HTB-37) ของสารสกัดจากผลของต้นโทงเทงด้วยตัวทำละลายอะซิโตนความเข้มข้นระหว่าง 3.13-50.00 ug/mL และการยับยั้งของยา Ellipticine ที่ระดับความเข้มข้น 2.50 ug/mL มีค่าการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100.00 ug/mL ($p < 0.01$) (ภาพที่ 4.8) แม้ว่าในปัจจุบัน ยังไม่พบการศึกษาการยับยั้งมะเร็งลำไส้ Caco2 จากต้นโทงเทง แต่การศึกษาสารสกัดจากจีนส์เดียวกันของต้นเคฟกูสเบอร์รี่ (*Physalis peruviana*)

หรือมีชื่อท้องถิ่นว่า โทงเทงฝรั่ง หรือ ระฆังทอง ที่มีผลมีลักษณะใหญ่กว่าโทงเทงท้องถิ่น (*P. ekokar*) เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

angulata) สารสกัดจากส่วนผลของต้นระฆังทอง ที่มีการด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95% สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ มีค่า IC_{50} ประมาณ 145 ug/ml [16]



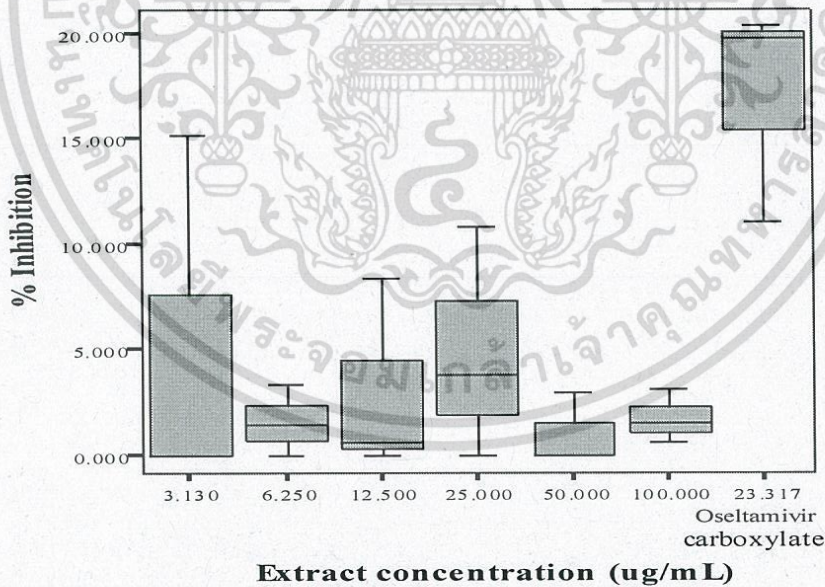
ภาพที่ 4.8 กราฟแสดงการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco2 ATCC HTB-37) ของสารสกัดจากผลด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 3.130-100.00 ug/mL เปรียบเทียบกับยา Ellipticine (ตัวอักษรแตกต่างกันที่กราฟ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9 การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase, NA)

การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามินิเดส ของสารสกัดจากผลโหลงเทงด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ความเข้มข้นระหว่าง 3.13-100.00 $\mu\text{g/mL}$ มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์น้อยกว่า (ยับยั้งได้ $0.99 \pm 0.99\% - 5.05 \pm 5.05\%$) การยับยั้งของยา Oseltamir carboxylate ความเข้มข้น 30 $\mu\text{g/mL}$ (ยับยั้งได้ $17.04 \pm 2.99\%$) มีค่า $IC_{50} \pm SE$ ประมาณ $78.00 \pm 30.02 \text{ ug/mL}$ (ภาพที่ 4.9)

แม้ว่าในปัจจุบันยังไม่พบการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ NA ที่สร้างจากอินฟลูเอนซาไวรัสมาก่อนจากสารสกัดของพืชในจีนัส *Physalis* พบแต่การทดสอบในสมุนไพรบางชนิด เช่น สตอเบอร์รี่ป่า (*Duchesnea indica*) ส่วนของต้นมีค่า IC_{50} ประมาณ $83.2 \pm 9.0 \text{ ug/mL}$ และส่วนผลของต้นแฮ็กไวซ่า (*Prunlla vulgaris*) มีค่า IC_{50} ประมาณ $40.4 \pm 2.8 \text{ ug/mL}$ เมื่อทดสอบด้วยวิธี Fluorometric determination (MUNANA-based enzyme inhibition assay) เหมือนกัน [51]



ภาพที่ 4.9 บอกระดับแสดงค่าการผันแปรของของค่ากิจกรรมการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ Neuraminidase ของสารสกัดจากตัวทำละลายอะซิโตนของผลโหลงเทงเปรียบเทียบกับยา Oseltamivir carboxylate ($p < 0.01$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การทดลองสกัดสารสำคัญจากส่วนของผลจากต้นโทงเทงด้วยเครื่องอัลตราโซนิกนี้ ได้ข้อมูลจากการคัดกรองฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากต้นโทงเทง ที่สกัดด้วยเครื่องซอกท์เลต จากโครงการพิเศษเรื่อง “ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โปรตีโอไลติกจากโทงเทง” ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ที่ดีหลายประการ

การทดสอบนี้ได้มุ่งเน้นทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งและการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามิดีเนสจากไวรัส H5N1 โดยใช้สารสกัดจากส่วนผลของโทงเทงด้วยตัวทำละลายอะซิโตน สกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่จะช่วยลดเวลาการสกัดจากการสกัดด้วยเครื่องซอกท์เลตได้ พบว่าสารสกัดมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูง มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิดได้ดี เช่น ในแบคทีเรียที่เรียก่อโรค โดยสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 ได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของรา *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra โดยค่าสารสกัดจากผลของโทงเทงมีค่าการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โรค *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 ที่มีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 0.65 ± 0.33 ug/mL และมีค่าการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคชนิด *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra มีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 3.28±0.85 ug/mL และยังพบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของราก่อโรค *M. grisea* Mat 1-1 THL1156 ได้ เมื่อใช้สิ่งสกัดความเข้มข้น 50 ug/mL มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ได้ประมาณ 43.25 ± 9.73%

สารสกัดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด ได้แก่ มะเร็งปอด มะเร็งในช่องปาก มะเร็งตับและมะเร็งลำไส้ โดยพบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด NCI-H187 ได้สูงกว่าความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดอื่นที่ถูกนำมาทดสอบ สารสกัดจากผลของโทงเทงนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอดได้ โดยมีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 15.06 ± 0.49 µg/mL นอกจากนี้สารสกัดยังสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นิวรามิดีเนสที่ได้จากไวรัส H5N1 ได้ โดยมีค่า IC₅₀ ± SE ประมาณ 78.00 ± 30.02 ug/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

นำเสนอผลงานทางวิชาการแบบโปสเตอร์ งานประชุมวิชาการ “The 13th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology (ISBB)” ระหว่างวันที่ 6-8 พฤศจิกายน พ.ศ. 2015 ณ เมืองเซินเจิ้น สาธารณรัฐประชาชนจีน ชื่อบทความทางวิชาการ “Antimicrobial, antioxidation and antiproteolytic activities of *Physalis angulata* L.”



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Ooi KL, Muhammad TST, Lim CH, Sulaiman SF. 2010. Apoptotic effects of *Physalis minima* L. chloroform extract in human breast carcinoma T-47D cells mediated by c-myc-, p53-, and caspase-3-dependent pathways. *Integrative cancer therapies* 9 (1): 73-83.
- [2] Shariff N, Sudarshana M, Umesha S, Hariprasad P. 2006. Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. *African Journal of Biotechnology* 5 (10): 946-50.
- [3] Kasali FM, Kadima JN, Mpiana PT, Ngbolua K-t-N, Tshibangu DS-T. 2013. Assessment of antidiabetic activity and acute toxicity of leaf extracts from *Physalis peruviana* L. in guinea-pig. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (11): 841-6.
- [4] <http://www.cabi.org/isc/datasheet/40711>. 2017. *Physalis angulata* (cutleaf groundcherry)
- [5] Da Silva BJM, Da Silva RRP, Rodrigues APD, Farias LHS, Do Nascimento JLM, Silva EO. 2016. *Physalis angulata* induces death of promastigotes and amastigotes of *Leishmania* (Leishmania) amazonensis via the generation of reactive oxygen species. *Micron* 82: 25-32.
- [6] Meira CS, Guimaraes ET, dos Santos JAF, Moreira DRM, Nogueira RC, Tomassini TCB, et al. 2015. In vitro and in vivo antiparasitic activity of *Physalis angulata* L. concentrated ethanolic extract against *Trypanosoma cruzi*. *Phytomedicine* 22 (11): 969-74.
- [7] Stuart K, Brun R, Croft S, Fairlamb A, Gürtler RE, McKerrow J, et al. 2008. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. *The Journal of Clinical Investigation* 118 (4): 1301-10.
- [8] Murali T, Vadluri R, Kumar M. 2013. In vitro determination of antioxidant activity of *Physalis angulata*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 4 (3): 541-9.
- [9] Choi EM, Hwang JK. 2005. Effect of some medicinal plants on plasma antioxidant system and lipid levels in rats. *Phytotherapy research : PTR* 19 (5): 382-6.
- [10] Valdivia-Mares LE, Zaragoza FAR, González JJS, Vargas-Ponce O. 2016. Phenology, agronomic and nutritional potential of three wild husk tomato species (*Physalis*, Solanaceae) from Mexico. *Scientia Horticulturae* 200: 83-94.
- [11] Puente LA, Pinto-Muñoz CA, Castro ES, Cortés M. 2011. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International* 44 (7): 1733-40.
- [12] Gonzalez-Mendoza D, Ascencio-Martinez D, Poox AH, Mendez-Trujillo V, Grimaldo-Juarez O, Hernandez JFS, et al. 2011. Phenolic compounds and physicochemical analysis of *Physalis ixocarpa* genotypes. *Scientific Research and Essays* 6 (17): 3808-14.
- [13] Jiménez-Santana E, Robledo-Torres V, Benavides-Mendoza A, Ramírez-Godina F, Ramírez-Rodríguez H, de La Cruz-Lázaro E. 2012. Calidad de fruto de genotipos tetraploides de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Universidad y ciencia* 28 (2): 153-61.
- [14] El Sheikha AF, Zaki MS, Bakr AA, El Habashy MM, Montet D. 2010. Biochemical and sensory quality of *Physalis* (*Physalis pubescens* L.) juice. *Journal of Food Processing and Preservation* 34 (3): 541-55.
- [15] Castro AM, Rodriguez L, Vargas EM. 2008. Dry gooseberry (*Physalis peruviana* L) with pretreatment of osmotic dehydration. *Vitae* 15 (2): 226-31.
- [16] Ramadan MF. 2011. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International* 44 (7): 1830-6.
- [17] Novoa R, Bojacá M, Galvis J, Fischer G. 2006. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva, almacenada a 12 C (*Physalis peruviana* L.). *Agronomía colombiana* 24 (1): 77-86.
- [18] Lima CSM, Severo J, Manica-Berto R, Silva JA, Rufato L, Rufato AdR. 2009. Chemical characteristics of cape-gooseberry fruits in different sepal colors and training systems. *Revista Brasileira de Fruticultura* 31 (4): 1061-8.
- [19] Ostrzycka J, Horbowicz M, Dobrzański W, Jankiewicz LS, Borkowski J. 1988. Nutritive value of tomatillo fruit (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 57 (4): 507-21.
- [20] Vargas-Ponce O, Pérez-Álvarez LF, Zamora-Tavares P, Rodríguez A. 2011. Assessing genetic diversity in mexican husk tomato species. *Plant Molecular Biology Reporter* 29 (3): 733-8.
- [21] Hseu YC, Wu CR, Chang HW, Kumar KJS, Lin MK, Chen CS, et al. 2011. Inhibitory effects of *Physalis angulata* on tumor metastasis and angiogenesis. *Journal of Ethnopharmacology* 135 (3): 762-71.

- [22] Lee HZ, Liu WZ, Hsieh WT, Tang FY, Chung JG, Leung HWC. 2009. Oxidative stress involvement in *Physalis angulata*-induced apoptosis in human oral cancer cells. *Food and Chemical Toxicology* 47 (3): 561-70.
- [23] Wu SJ, Ng LT, Chen CH, Lin DL, Wang SS, Lin CC. 2004. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. *Life Sciences* 74 (16): 2061-73.
- [24] Maldonado E, Hurtado NE, Pérez-Castorena AL, Martínez M. 2015. Cytotoxic 20,24-epoxywithanolides from *Physalis angulata*. *Steroids* 104: 72-8.
- [25] Pinto NB, Morais TC, Carvalho KMB, Silva CR, Andrade GM, Brito GAC, et al. 2010. Topical anti-inflammatory potential of Physalin E from *Physalis angulata* on experimental dermatitis in mice. *Phytomedicine* 17 (10): 740-3.
- [26] Adnyana IK, Yulinh E, Maeistuti N, Setiawan F. 2014. Evaluation of ethanolic extracts of mullaca (*Physalis angulata* L.) herbs for treatment of lupus disease in mice induced pristane. *Procedia Chemistry* 13: 186-93.
- [27] Choi EM, Hwang JK. 2003. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*. *Journal of Ethnopharmacology* 89 (1): 171-5.
- [28] Bastos GNT, Silveira AJA, Salgado CG, Picanço-Diniz DLW, do Nascimento JLM. 2008. *Physalis angulata* extract exerts anti-inflammatory effects in rats by inhibiting different pathways. *Journal of Ethnopharmacology* 118 (2): 246-51.
- [29] Poojari S, Porika R, Mamidala E. 2014. Phytochemical analysis and in vitro antidiabetic activities of *Physalis angulata* fruit extracts. *National Journal of Integrated Research in Medicine* 5 (2): 34-8.
- [30] Row LR, Sarma NS, Matsuura T, Nakashima R. 1978. Physalins E and H, new physalins from *Physalis angulata* and *P. lancifolia*. *Phytochemistry* 17 (9): 1641-5.
- [31] Augustine A, Ufuoma O. 2013. Flavonoids from the leaves of *Physalis angulata* Linn. *Planta Medica* 79 (13): PJ5.
- [32] Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181 (4617): 1199-200.
- [33] Aremu EA, Furumai T, Igarashi Y, Sato Y, Akamatsu H, Kodama M, et al. 2003. Specific inhibition of spore germination of *Alternaria brassicicola* by fistupyronone from *Streptomyces* sp. TP-A0569. *Journal of General Plant Pathology* 69 (4): 211-7.
- [34] Guarro J, Pujol I, Aguilar C, Llop C, Fernandez-Ballart J. 1998. Inoculum preparation for in-vitro susceptibility testing of filamentous fungi. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 42 (3): 385-7.
- [35] Changsen C, Franzblau SG, Palittapongarnpim P. 2003. Improved green fluorescent protein reporter gene-based microplate screening for antituberculosis compounds by utilizing an acetamidase promoter. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47 (12): 3682-7.
- [36] Collins LA, Torrero MN, Franzblau SG. 1998. Green fluorescent protein reporter microplate assay for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 42 (2): 344-7.
- [37] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : Sixteenth informational supplement M100-S16. Wayne, PA.
- [38] O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European journal of biochemistry* 267 (17): 5421-6.
- [39] Potier M, Mameli L, Bèlisle M, Dallaire L, Melançon SB. 1979. Fluorometric assay of neuraminidase with a sodium (4-methylumbelliferyl- α -D-N-acetylneuraminic) substrate. *Analytical Biochemistry* 94 (2): 287-96.
- [40] Nnamani CV, Ani OC, Belunwu G. 2009. Larvicidal effects of ethanol extracts of leaves and fruits of *Physalis angulata* L. on the larvae of *Anopheles mosquitoes* from Ebonyi State, Nigeria. *Animal Research International* 6 (3): 1059-62.
- [41] Choi EM, Hwang JK. 2005. Screening of Indonesian medicinal plants for inhibitor activity on nitric oxide production of RAW264.7 cells and antioxidant activity. *Fitoterapia* 76 (2): 194-203.
- [42] Rivera DE, Ocampo YC, Castro JP, Caro D, Franco LA. 2015. Antibacterial activity of *Physalis angulata* L., *Merremia umbellata* L., and *Cryptostegia grandiflora* Roxb. Ex R.Br. - medicinal plants of the Colombian Northern Coast. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 15 (1): 95-102.
- [43] Osho A, Adetunji T, Fayemi SO, Moronkola DO. 2010. Antimicrobial activity of essential oils of *Physalis angulata*. L. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines* 7 (4): 303-6.
- [44] Pietro RC, Kashima S, Sato DN, Januario AH, Franca SC. 2000. In vitro antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 7 (4): 335-8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [45] Januário AH, Filho ER, Pietro RCLR, Kashima S, Sato DN, França SC. 2002. Antimycobacterial physalins from *Physalis angulata* L. (Solanaceae). *Phytotherapy Research* 16 (5): 445-8.
- [46] Ismail N, Alam M. 2001. A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulata*. *Fitoterapia* 72 (6): 676-9.
- [47] Lee HZ, Liu WZ, Hsieh WT, Tang FY, Chung JG, Leung HW. 2009. Oxidative stress involvement in *Physalis angulata*-induced apoptosis in human oral cancer cells. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 47 (3): 561-70.
- [48] He QP, Ma L, Luo JY, He FY, Lou LG, Hu LH. 2007. Cytotoxic withanolides from *Physalis angulata* L. *Chemistry & biodiversity* 4 (3): 443-9.
- [49] Wu SJ, Ng LT, Chen CH, Lin DL, Wang SS, Lin CC. 2004. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. *Life Science* 74 (16): 2061-73.
- [50] Ma T, Zhang W-N, Yang L, Zhang C, Lin R, Shan S-M, et al. 2016. Cytotoxic withanolides from *Physalis angulata* var. *villosa* and the apoptosis-inducing effect via ROS generation and the activation of MAPK in human osteosarcoma cells. *RSC Advances* 6 (58): 53089-100.
- [51] Tian L, Wang Z, Wu H, Wang S, Wang Y, Wang Y, et al. 2011. Evaluation of the anti-neuraminidase activity of the traditional Chinese medicines and determination of the anti-influenza A virus effects of the neuraminidase inhibitory TCMs in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology* 137 (1): 534-42.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง

1. อาหาร minimal salt medium (MM) ที่ใช้เลี้ยงรา *Curvularia lunata* ประกอบด้วย

● แอมโมเนียมไนเตรต	ความเข้มข้น	3 g/L
● กลูโคส	ความเข้มข้น	20 g/L
● โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต ($\text{NaHPO}_4\text{H}_2\text{O}$)	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● แคลเซียมคลอไรด์	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● สารสกัดจากยีสต์	ความเข้มข้น	1 g/L

2. อาหาร minimum salt medium (MM) ที่ใช้เพาะเลี้ยงรา *Magnaporthe grisea* Mat 1-1

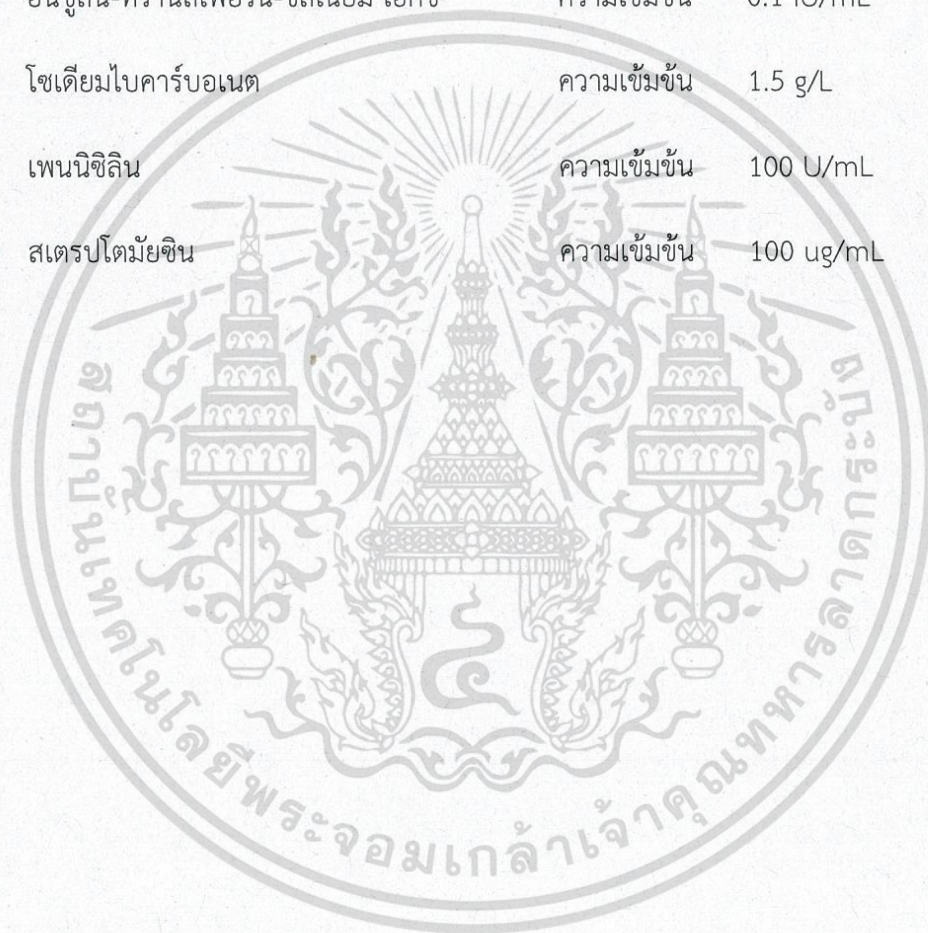
TH1156 (BCC 10261) ประกอบด้วย

● แอมโมเนียมไนเตรต	ความเข้มข้น	3 g/L
● กลูโคส	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต ($\text{NaHPO}_4\text{H}_2\text{O}$)	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต	ความเข้มข้น	0.5 g/L
● แคลเซียมคลอไรด์ และสารสกัดจากยีสต์	ความเข้มข้นเท่ากัน	ความเข้มข้น 1 g/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. อาหาร Minimal Essential Medium (MEM) ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco2 ATCC HBT-37) ประกอบด้วย

■ bovine serum albumin (BSA)	ความเข้มข้น	10%
■ แอลกลูตามีน	ความเข้มข้น	2 mM
■ กรดอะมิโนไม่จำเป็น	ความเข้มข้น	0.1 mM
■ อินซูลิน-ทรานสเฟอริน-ซีลีเนียม เอ็กซ์	ความเข้มข้น	0.1 IU/mL
■ โซเดียมไบคาร์บอเนต	ความเข้มข้น	1.5 g/L
■ เพนนิซิลิน	ความเข้มข้น	100 U/mL
■ สเตรปโตมัยซิน	ความเข้มข้น	100 ug/mL



สรุปการใช้จ่ายเงิน

รายการ	จำนวนเงิน (บาท)
ค่าใช้จ่าย	
▪ ค่าเบี้ยเลี้ยง	900
▪ ค่าที่พัก	2,500
▪ ค่าเดินทาง	1,600
▪ ค่าจ้างวิเคราะห์	20,000
▪ ค่าจ้างพิมพ์รายงาน	1,000
▪ ค่าจัดทำรูปเล่มรายงาน	1,000
ค่าวัสดุ	
▪ ค่ากระดาษ	1,000
▪ ค่าสารเคมี	21,000
▪ ค่าถ่ายเอกสาร	1,000
รวมทั้งสิ้น	50,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ธนาวดี ก่ออานันต์
2. ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Thanavadee Kor-aranan
3. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3329900301503
4. การศึกษาระดับอุดมศึกษา (เรียงจากคุณวุฒิสูงสุด)

คุณวุฒิ	ปี พ.ศ. ที่จบ	ชื่อสถานศึกษา
มัธยมศึกษา	พ.ศ. 2534	โรงเรียนสิรินธร (จ. สุรินทร์)
วทบ. (เทคโนโลยีชีวภาพ)	พ.ศ. 2539	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง
วศม. (เคมี)	พ.ศ. 2543	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
กำลังศึกษาระดับปริญญาเอก		
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ	พ.ศ. 2552-ปัจจุบัน	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. ตำแหน่ง อาจารย์พนักงานมหาวิทยาลัย
6. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อ

สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เลขที่ 1 ซอย ฉลองกรุง 1 แขวงลำปาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์ 02-329-8400 ถึง 11 ต่อ 236 แฟกซ์ 02-329-8412
E-mail : kschotir@kmitl.ac.th; thanavadee9@hotmail.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปดลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้