

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

ตับเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญในร่างกาย เป็นแหล่งควบคุมสมดุลและเก็บสะสมธาตุเหล็กที่สำคัญ (Deugnier, Brissot et al. 2008) รวมทั้งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบเมตาโบลิสม์ต่างๆ ของสารชีวโมเลกุลในร่างกาย โรคมะเร็งตับ (liver cancer) เป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับตับ โดยสาเหตุอาจเกิดจากสารประกอบออกซิเจนไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species, ROS) หรืออนุมูลอิสระ (free radicals) ในปัจจุบันนี้การค้นคว้าหาพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก

มะตูม (Bael) เป็นพืชสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณมากมายและยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา อาทิเช่น ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ต้านเชื้อรา, ต้านยีสต์, ต้านไวรัส, ต้านเชื้อมาลาเรีย, ฆ่าแมลง เป็นต้น (Badam, Bedekar et al. 2002; Arul, Miyazaki et al. 2005; Baliga, Thilakchand et al. 2012; Das and Roy 2012) งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่ศึกษาส่วนของใบมะตูม โดยพบว่าสารสำคัญในใบมะตูมนั้นประกอบด้วยสารกลุ่ม skimmianine, aegeline, lupeol, cineol, citral, citronellal, cuminaldehyde, eugenol และ marmesinin (Maity, Hansda et al. 2009; Baliga, Thilakchand et al. 2012) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันและช่วยทำลายอนุมูลอิสระ

จากการทบทวนวรรณกรรมมีรายงานวิจัยที่เกี่ยวกับมะตูม ดังนี้ Mahesh Kumar และคณะ (Mahesh 2005) ได้วิเคราะห์สารอาหารของต้นมะตูม พบว่าใบแก่ของมะตูมประกอบไปด้วย nitrogen วิเคราะห์โดย kjeldahl digestion method, วิเคราะห์ phosphorus โดย spectrophotometry, วิเคราะห์ potassium และ calcium โดย flame photometry, วิเคราะห์ magnesium โดย EDTA titration method, วิเคราะห์ zinc, iron, manganese, และ copper โดย atomic absorption

spectrophotometry, วิเคราะห์ boron โดยให้ boron ทำปฏิกิริยากับ azomethine-H และหาปริมาณโดยใช้ spectrophotometry

นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยพบว่าน้ำมันจากใบมะตูมสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ของเชื้อราได้ 100% ที่ความเข้มข้นของน้ำมัน 500 ppm (Rana, Singh et al. 1997) สารสกัดจากใบมะตูมมีคุณสมบัติช่วยลดการอักเสบ บรรเทาอาการปวดและลดไข้ในหนูทดลองได้ โดยใช้ตัวทำละลาย บีโตรีเลียม อีเทอร์, คลอโรฟอร์ม, ไดเอทิลอีเทอร์, อะซีโตน, เอทานอล และ เมทานอล ในการสกัด (Arul, Miyazaki et al. 2005) และมีรายงานพบว่ามะตูมสามารถใช้รักษาโรคเบาหวานในหนูทดลอง สารสกัดน้ำของมะตูม (Kamalakkannan and Prince 2003) และสารสกัดน้ำของเมล็ดมะตูม (Kesari, Gupta et al. 2006) มีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดหนู (antihyperglycemic)

สำหรับงานของโครงการวิจัยนี้ เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับของสารสกัดจากใบมะตูม โดยการทดสอบกับเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ ซึ่งจัดว่าเป็นการทดสอบแบบ *ex vivo* หรือ *in vitro* เริ่มจากการสกัดใบมะตูมด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ เอทานอล, เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, บิวทานอล และน้ำ ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดใบมะตูมที่ได้ไปตรวจวัดหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม ซึ่งพบว่าใบมะตูมที่สกัดด้วยตัวทำละลาย บิวทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด และจากงานด้านพิษวิทยาของใบมะตูมได้ตรวจพบกลุ่มสาร alkaloids

ในประเทศบังกลาเทศได้มีการใช้สารสกัดมะตูมเพื่อศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยใช้วิธีทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ดังนี้ brine shrimp lethality assay, sea urchin eggs assay และ MTT assay ซึ่งพบว่าสารสกัดมะตูมมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เนื่องจากมีสารกลุ่ม skimmianine เป็นองค์ประกอบ (Leticia, Costa et al. 2005) และในปี 2003 พบว่าสารสกัดมะตูมสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด เช่น leucenic K562, T-lymphoid Jurkat, Beta-lymphoid Raji และ Erythro leukemic HEL (Lampronti, Martello et al. 2003) เป็นต้น งานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดใบมะตูมต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) โดยใช้วิธี MTT หาความเข้มข้น

ของสารสกัดที่ทำให้เซลล์มะเร็งมีชีวิตรอดได้ 50% (IC<sub>50</sub>) เป็นค่าเปรียบเทียบความแรงของสารสกัดในการฆ่าเซลล์มะเร็ง

จากการทดสอบสารสกัดชนิดต่างๆ จากใบมะตูม ได้ผลเบื้องต้นเป็นที่น่าสนใจ สารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบมะตูมมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งดับมากที่สุด และยังพบว่าสารสกัดจากใบมะตูมด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด มีผลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งดับ โดยมีแนวโน้มลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดใบมะตูมที่เพิ่มขึ้น ซึ่งฤทธิ์การฆ่าเซลล์มะเร็งดับนั้นน่าจะเกิดจากสารกลุ่ม alkaloids ที่มีคุณสมบัติเข้าสู่เซลล์ได้ดีและแสดงบทบาทเป็น pro-oxidant activity เข้าทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์มะเร็งดับจึงส่งผลทำให้เกิดการตายของเซลล์

นอกจากนั้นยังมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้สารสกัดใบมะตูม พบว่าสามารถลดภาวะออกซิเดทีฟสเตรสโดยการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation และช่วยเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระและระดับน้ำตาลในหนูทดลองที่ถูกกระตุ้นให้เป็นโรคเบาหวานด้วยสาร alloxan (Sabu and Kuttan 2004) งานวิจัยนี้จึงได้ทำการตรวจวัดปริมาณสารอนุมูลอิสระ reactive oxygen species (ROS) และปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่เรียกว่าปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ในเซลล์มะเร็งดับ (HepG2) พบว่าสารสกัดใบมะตูมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถเข้าทำลาย ROS ภายในเซลล์มะเร็งดับได้ โดยสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยตัวทำละลายไม่มีขั้ว ได้แก่ คลอโรฟอร์มและเฮกเซน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ROS ได้ดีกว่าสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล บิวทานอล และน้ำ ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว ซึ่งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ROS น่าจะเกิดจากสาร active compound กลุ่ม alkaloids

ในขณะที่ฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลลิปิดเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์นั้นน่าจะเกิดจากสาร active compound กลุ่ม phenolic โดยพบว่าสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้ว ได้แก่ บิวทานอล น้ำ และเอทานอล มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลลิปิดเปอร์ออกไซด์ได้ดีกว่าสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยเฮกเซนและคลอโรฟอร์มซึ่งเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้ว จากผลการทดลองนี้จึงสามารถบ่งชี้ได้ว่าสาร active compounds ที่ต่างชนิดกัน สามารถแสดงบทบาท ออกฤทธิ์หรือมีคุณสมบัติทาง

กายภาพที่แตกต่างกัน อาทิเช่น คุณสมบัติในการละลาย ความมีขี้้ว และการเข้าสู่เซลล์ เป็นต้น จึงส่งผลให้สาร active compounds เหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันออกไป

จากผลการวิจัยเบื้องต้นนี้ เป็นที่น่าสนใจที่จะทำการศึกษาและพัฒนาสารสกัดโสมเทศที่มีคุณสมบัติทั้งการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์กระตุ้นการตายของเซลล์มะเร็งเรื้อรัง เพื่อใช้เป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคมะเร็งเรื้อรังในอนาคตต่อไป

PAYAP UNIVERSITY