155409

รายงานการวิจัย

เรื่อง

(การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและพิษต่อเซลล์มะเร็งตับของสารสกัดจากใบมะตูม)

(Investigation of Antioxidant Activities and Cytotoxicity in Human Hepatocellular Carcinoma Cell Lines of Bael Leaf Extract)

โดย

กนกวรรณ กุลประชากานต์

สมเดช ศรีชัยรัตนกูล

ดวงตา กาญจนโพธิ์

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยพายัพ
สัจจะ-บริการ

รายงานวิจัย ฉบับที่ 331

ปี พ.ศ. 2558

มหาวิทยาลัยพายัพ

PAYAP UNIVERSITY

ชื่อรายงานการวิจัย	**การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและพิษต่อเซลล์มะเร็งตับของสารสกัดจากใบมะตูม**
ชื่อผู้วิจัย	**กนกวรรณ กุลประชากานต์, สมเดช ศรีชัยรัตนกูล และดวงตา กาญจนโพธิ์**
ปีที่ทำงานวิจัยเสร็จ	2558

บทคัดย่อ

การวิจัยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและพิษต่อเซลล์มะเร็งตับของสารสกัดจากใบมะตูม มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดใบมะตูม, ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับของสารสกัดใบมะตูม และตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะตูมในเซลล์มะเร็งตับ ผลการศึกษาพบว่าเมื่อทำการสกัดใบมะตูมด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ เอทานอล, เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, บิวทานอล และน้ำ จากนั้นจึงนำสารสกัดใบมะตูมที่ได้ไปตรวจหาองค์ประกอบทางเคมี โดยพบว่าเป็นกลุ่มอัลคาลอยด์และตรวจวัดหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม ซึ่งพบว่าใบมะตูมที่สกัดด้วยตัวทำละลายบิวทานอลจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด และจากการทดลองพบว่าสารสกัดมะตูมทั้ง 5 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cell) โดยการประเมินค่า % cell viability ในความเข้มข้นที่กำหนด โดยพบว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มของใบมะตูมมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดใบมะตูมยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์มะเร็งตับ ซึ่งได้ทำการตรวจวัดปริมาณสารอนุมูลอิสระ reactive oxygen species (ROS) และปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) จากผลการวิจัยเบื้องต้นนี้ สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาและพัฒนาสารสกัดใบมะตูมที่มีคุณสมบัติทั้งการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ เพื่อใช้เป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคมะเร็งตับในอนาคตต่อไป

PAYAP UNIVERSITY

Title **Investigation of Antioxidant Activities and Cytotoxicity in Human Hepatocellular Carcinoma Cell Lines of Bael Leaf Extract**

Author **Kanokwan Kulprachakarn, Somdet Srichairatanakool and Duangta Kanjanapothi**

Year **2558**

Abstract

The present study was conducted to determine the phytochemical compounds and to investigate the antioxidant activity and cytotoxicity of Bael leaf extract in human hepatocellular carcinoma cell lines. In the study, Bael leaves extract were prepared by ethanol, hexane, chloroform, butanol and water extraction, respectively. All plant extracts showed the presence of alkaloid compounds whereas the butanol-extracted Bael leaves contained the highest amount of total phenolic compounds. The ability of Bael leaves extracted to inhibit hepatic cancer cells (HepG2 cell) growth were evaluated by determining the percentages of cell viability. Chloroform-extracted Bael leaves showed strongest ability to inhibit the cancer cells growth with IC_{50} at 15 µg/ml. Additionally, it was found that Bael leaves extracts exhibit the antioxidant activity by the ability to lowering level of reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA) in HepG2 cell. Our preliminary results may be useful for further study and support the use of Bael leaves extract as a novel alternative medicine for treatment of liver cancer.

PAYAP UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและพิษต่อเซลล์มะเร็งตับของสารสกัดจากใบมะตูมสำเร็จได้ เนื่องจากบุคคลหลายท่านได้กรุณาช่วยเหลือให้ข้อมูล ข้อเสนอแนะ คำปรึกษาแนะนำ ความคิดเห็นและกำลังใจ

ขอขอบพระคุณ ดร. สะแกวัลย์ อุ่นใจจีน ผู้วิจารณ์งานวิจัย, รศ. ภก. สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์, ดร. ภญ. สรัญญา ชวนพงษ์พานิช และ ดร. กาญจนา แปงจิตต์ คณะกรรมการการประเมินงานวิจัยฉบับร่าง และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยพายัพ ในการให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยประจำปีการศึกษา 2557

ท้ายสุดนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดาและมารดาที่ช่วยส่งเสริมสนับสนุน กระตุ้นเตือน และเป็นกำลังใจตลอดมาให้ผู้เขียนจัดทำรายงานการวิจัยในครั้งนี้

กนกวรรณ กุลประชากานต์ และคณะ

28 กรกฎาคม 2558

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
สัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	4
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 โรคมะเร็งตับ	5

PAYAP UNIVERSITY

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ 6

2.3 มะตูม 7

2.4 กรอบแนวความคิด 12

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 13

3.1 กรอบแนวความคิดของการวิจัย 13

3.2 ระเบียบวิธีวิจัย 14

บทที่ 4 ผลการวิจัย 25

4.1 การเก็บตัวอย่างพันธุ์ไม้แห้ง 25

4.2 การเตรียมสารสกัดใบมะตูม 26

4.3 การตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบมะตูม 27

4.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดใบมะตูมต่อเซลล์มะเร็งตับ 28

4.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะตูมในเซลล์มะเร็งตับ 35

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 49

บรรณานุกรม 53

ภาคผนวก 57

ภาคผนวก ก 57

ประวัตินักวิจัย 58

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
4.1	แสดง % yield ของสารสกัดใบมะตูมแห้ง	26
4.2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดในตัวทำละลายชนิดต่างๆ	27
4.3	ปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล	36
4.4	ปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยเฮกเซน	37
4.5	ปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	38
4.6	ปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยบิวทานอล	39
4.7	ปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยน้ำ	40
4.8	ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล	43

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
4.9	ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยเฮกเซน	44
4.10	ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	45
4.11	ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยบิวทานอล	46
4.12	ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ของสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยน้ำ	47

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญรูป

รูป		หน้า
1.1	ลักษณะของใบและผลมะตูม, ใบมะตูม และผลมะตูม	2
2.1	ลักษณะของต้นมะตูม	8
2.2	ลักษณะของใบและดอกมะตูม	9
2.3	ลักษณะของผลมะตูม	9
3.1	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดเอทานอลจากใบมะตูม	15
3.2	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, บิวทานอล และน้ำของใบมะตูม	17
4.1	แสดงวิธีการเก็บตัวอย่างพันธุ์ไม้แห้ง	25
4.2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลจากใบมะตูม (µg/ml)	29
4.3	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซนจากใบมะตูม (µg/ml)	30
4.4	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับความเข้มข้นของสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบมะตูม (µg/ml)	31

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
4.5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับความเข้มข้นของสารสกัดบิวทานอลจากใบมะตูม (µg/ml)	32
4.6	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับความเข้มข้นของสารสกัดน้ำจากใบมะตูม (µg/ml)	33
4.7	สรุปประสิทธิภาพของค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ตายร้อยละ 50 (ค่า IC_{50}) (µg/ml) ของสารสกัดใบมะตูม fractions ต่างๆ	34
4.8	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดเอทานอลจากใบมะตูม (µg/ml)	36
4.9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดเฮกเซนจากใบมะตูม (µg/ml)	37
4.10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบมะตูม (µg/ml)	38
4.11	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดบิวทานอลจากใบมะตูม (µg/ml)	39

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
4.12	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดน้ำจากใบมะตูม (µg/ml)	40
4.13	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROS (ค่า % Fluorescence intensity) ในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดใบมะตูม fractions ต่างๆ (µg/ml)	41
4.14	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดเอทานอลจากใบมะตูม (µg/ml)	43
4.15	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดเฮกเซนจากใบมะตูม (µg/ml)	44
4.16	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบมะตูม (µg/ml)	45
4.17	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดบิวทานอลจากใบมะตูม (µg/ml)	46
4.18	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดน้ำจากใบมะตูม (µg/ml)	47

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
4.19	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nM/µg protein) ที่เยื้อหุ้มเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) กับสารสกัดใบมะตูม fractions ต่างๆ (µg/ml)	48

PAYAP UNIVERSITY

สัญลักษณ์และคำย่อ

%	เปอร์เซ็นต์
°C	องศาเซลเซียส
CO_2	คาร์บอนไดออกไซด์
g	กรัม
hr	ชั่วโมง
µg	ไมโครกรัม
mg	มิลลิกรัม
ml	มิลลิลิตร
nM	นาโนโมลาร์
rpm	รอบต่อนาที

PAYAP UNIVERSITY