

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคมะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรในประเทศไทยในปัจจุบัน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นใน ทุก ๆ ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ.2525-2538<sup>(1)</sup> มะเร็งเป็นโรคที่เกิดได้จากหลายสาเหตุและสามารถเป็นได้กับทุกส่วนของร่างกาย อีกทั้งยังมีหลายรูปแบบ อาทิ มะเร็งที่มีลักษณะเป็นก้อน (solid tumour หรือ sarcoma) มะเร็งเยื่อต่าง ๆ (carcinoma) หรืออาจเป็นมะเร็งของเม็ดเลือดขาว (leukemia) ต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) ซึ่งจะมีการแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย นอกจากนี้มะเร็งแต่ละชนิดยังมีอัตราการเจริญและการตอบสนองต่อการรักษาแตกต่างกันออกไปทำให้การรักษาโรคมะเร็งเป็นไปด้วยความลำบาก ดังนั้นการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งโดยวิธีที่ถูกต้องจะทำให้อัตราการเจ็บป่วยและอัตราการตายของประชากรลดลง การรักษาโรคมะเร็งมีหลายวิธีเช่น การผ่าตัด การฉายรังสีและ การใช้เคมีบำบัด (chemotherapy) แต่พบว่ามีอาการข้างเคียงจากการใช้ยาสูง ดังนั้นจึงยังคงต้องมีการพัฒนาวิธีการใหม่ ๆ หรือพัฒนายาต้านมะเร็งชนิดใหม่ต่อไป ในช่วงกว่า 40 ปี ที่ผ่านมา มีการค้นคว้าวิจัยเพื่อหายาต้านมะเร็งชนิดใหม่จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง สถาบันมะเร็งแห่งชาติของสหรัฐอเมริกาทำการสำรวจหาสารแสดงฤทธิ์ต้านเนื้องอกและมะเร็งจากธรรมชาติตั้งแต่ปี ค.ศ.1960 ได้เริ่มทดสอบสารสกัดจากพืช และสิ่งมีชีวิตในทะเลตัวอย่างสารจากพืชที่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ ได้แก่ โพลีโพลโทกซิน (podophyllotoxin) จาก *Podophyllum peltatum* วงศ์ Berberidaceae สารชนิดนี้มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งแต่จะมีความเป็นพิษสูง จึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นยาได้โดยตรงจึงมีการพัฒนาเป็นสารอนุพันธ์ 2 ชนิด คือ อีโทโพไซด์ (etoposide) และ ทีนีโพไซด์ (teniposide) เป็นยารักษามะเร็งที่ใช้อยู่ในปัจจุบันต่อมามีการค้นพบยาต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาว 2 ชนิด คือ วินบลาสทีน (vinblastine, VLB) และ วินคริสทีน (vincristine, VCR) ซึ่งเป็นสาร alkaloids จากแพงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus*) วงศ์ Apocynaceae<sup>(2)</sup> จากอดีตถึงปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ cytotoxic การศึกษาวิจัยพบว่า มีฤทธิ์ต้านมะเร็งหลายชนิด ดังในตารางที่ 2-1 และ 2-2 ในการศึกษาวิจัยเพื่อหายาต้านมะเร็งมักจะเริ่มต้นจากการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งในหลอดทดลองก่อน อย่างไรก็ตามการทดสอบฤทธิ์ ดังกล่าวจะมีค่าใช้จ่ายสูงและต้องการเครื่องมือที่เฉพาะ จึงมีการนำวิธีการที่ง่าย เสียค่าใช้จ่ายน้อย มาใช้ทดแทนในเบื้องต้น วิธีการหนึ่งที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย คือ การทดสอบความเป็นพิษต่อ brine shrimp ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทดสอบฤทธิ์ดังกล่าวของพืชสมุนไพรไทย โดยได้ทำการคัดเลือกพืช บางชนิดในวงศ์ Annonaceae และวงศ์ Meliaceae ซึ่งการคัดเลือกพืชดังกล่าวใช้เกณฑ์ของ chemotaxonomy และเป็นพืชที่ยังไม่มีการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อ brine shrimp มาก่อน เพื่อศึกษาถึงศักยภาพของสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ดังกล่าว และเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนายาต้านมะเร็งเพื่อใช้ในอนาคตต่อไป

## วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ของพืชสมุนไพรเบื้องต้น โดยทดลองกับ brine shrimp ซึ่งสามารถนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ในการคัดเลือกพืชเพื่อวิจัยหาสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรส่น้ำตาลต่อไปและอาจนำไปสู่การค้นพบสารที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง

## ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยวงศ์ Annonaceae และวงศ์ Meliaceae จำนวน 6 ชนิด (โดยมีเปลือกต้นน้อยหน่าเป็น positive control) ที่มีพิษต่อ brine shrimp ซึ่งเลี้ยงไขของ brine shrimp ใน artificial seawater (sea salt 38 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร) โดยให้ dried yeast เป็นอาหาร ภายใต้อุณหภูมิห้องหลังจาก 48 ชั่วโมง เปิด brine shrimp 100 ไมโครลิตร ใส่ในสารสกัดที่เตรียมไว้ใน 96 well microplates แล้วนับ brine shrimp ที่ตายหลังจาก 24 ชั่วโมง โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอช่วยส่องขยายเพื่อให้การนับง่ายขึ้น

## วิธีการดำเนินการศึกษา

1. ค้นคว้ารวบรวมเอกสารและบททวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการศึกษาวิจัยเรื่องความเป็นพิษต่อ brine shrimp ของพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ
2. สุ่มและคัดเลือกพืชสมุนไพรไทยโดยใช้เกณฑ์ chemotaxonomy ในการคัดเลือกพืช จึงได้พืชในวงศ์ Annonaceae และ วงศ์ Meliaceae
3. สกัดแยกสารจากพืชสมุนไพรไทยในวงศ์ Annonaceae และ วงศ์ Meliaceae จำนวน 6 ชนิด แต่ละชนิดใช้ใบและเปลือกต้น ยกเว้น น้อยหน่าใช้ใบและเมล็ด และใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย จึงได้ตัวอย่างทั้งหมด 12 ชนิด โดยมีเปลือกต้นน้อยหน่าเป็น positive control
4. นำสารสกัดที่ได้จากพืชสมุนไพรทั้ง 12 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อ brine shrimp
5. นำข้อมูลมาหาค่า  $LC_{50}$  (50% of Lethality Concentration) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการคำนวณ (Zenite Data System 1984)
6. นำสารสกัดที่มีค่า  $LC_{50} < 250 \mu\text{g/ml}$  ไปแยก (partition) ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกัน เช่น น้ำ, dichloromethane, hexane และ 90% methanol
7. นำสารที่แยกได้มาทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อ brine shrimp
8. นำข้อมูลมาหาค่า  $LC_{50}$
9. รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล
- 10.สรุป วิจัยณ์ผล

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ในการคัดเลือกพืชสมุนไพร เพื่อวิจัยหาสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อ brine shrimp ต่อไป และอาจนำไปสู่การค้นพบสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์ฆ่าแมลง เป็นต้น